

EXHIBIT A

Polypeptide having an activity to support proliferation or survival of hematopoietic stem cell or hematopoietic progenitor cell, and DNA coding for the same

造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持し得るポリペプチド

およびそれをコードするDNA

発明の背景

技術分野

本発明は、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持し得るポリペプチド、同ポリペプチドをコードするDNA、および、同ポリペプチドを含む医薬組成物に関する。

従来の技術

生体中の成熟血液細胞の寿命は短期間であり、絶えず造血前駆細胞の分化により成熟血液細胞が供給されることにより、血液の恒常性が保たれている。造血前駆細胞は、さらに未分化な造血幹細胞の分化により生成する。造血幹細胞は、各種の分化系列に分化できる能力（分化多能性）を有しているとともに、分化多能性を保持したまま自己複製することで生涯にわたり、造血細胞を供給する。つまり、自己複製をすることで分化多能性を持つ幹細胞を生じるとともに、一部は造血前駆細胞を経て各種の成熟血液細胞に分化することが知られている。

このような血液細胞の分化は、種々のサイトカインにより調節されている。エリスロポエチンは赤血球系の細胞の分化を促進し、G-CSFは好中球系の、トロンボポエチンは巨核球、血小板産生細胞の分化を促進することが知られている。しかしながら、造血幹細胞が分化多能性を保持したまま自己複製するに際し、どのような因子が必要とされるかは分かっていない。造血幹細胞の増殖因子として、SCF/MGF (Williams, D. E., Cell, 63:167-174, 1990; Zsebo, K. M., Cell, 63:213-224, 1990) や、SCGF (W098/08869) などいくつかの報告があるが、いずれも造血幹細胞の分化多能性を十分に維持する作用を有していない。また、既知のサイトカインを複数組み合わせることで造血幹細胞を培養する試みがなされているが、造血幹細胞を効率的に増幅させる系の確立はできていない (Miller CL, Proc.

造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持し得るポリペプチド

およびそれをコードするDNA

発明の背景

技術分野

本発明は、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持し得るポリペプチド、同ポリペプチドをコードするDNA、および、同ポリペプチドを含む医薬組成物に関する。

従来の技術

生体中の成熟血液細胞の寿命は短期間であり、絶えず造血前駆細胞の分化により成熟血液細胞が供給されることにより、血液の恒常性が保たれている。造血前駆細胞は、さらに未分化な造血幹細胞の分化により生成する。造血幹細胞は、各種の分化系列に分化できる能力（分化多能性）を有しているとともに、分化多能性を保持したまま自己複製することで生涯にわたり、造血細胞を供給する。つまり、自己複製をすることで分化多能性を持つ幹細胞を生じるとともに、一部は造血前駆細胞を経て各種の成熟血液細胞に分化することが知られている。

このような血液細胞の分化は、種々のサイトカインにより調節されている。エリスロポエチンは赤血球系の細胞の分化を促進し、G-CSFは好中球系の、トロンボポエチンは巨核球、血小板産生細胞の分化を促進することが知られている。しかしながら、造血幹細胞が分化多能性を保持したまま自己複製するに際し、どのような因子が必要とされるかは分かっていない。造血幹細胞の増殖因子として、SCF/MGF (Williams, D. E., Cell, 63:167-174, 1990; Zsebo, K. M., Cell, 63:213-224, 1990) や、SCGF (W098/08869) などいくつかの報告があるが、いずれも造血幹細胞の分化多能性を十分に維持する作用を有していない。また、既知のサイトカインを複数組み合わせることで造血幹細胞を培養する試みがなされているが、造血幹細胞を効率的に増幅させる系の確立はできていない (Miller CL, Proc.

Natl. Acad. Sci. USA, 94:13648-13653, 1997; Yagi M., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 96: 8126-8131, 1999; Shih C. C. Blood, 94:5 1623-1636 1999)。

一方、造血細胞の維持、増殖に適した環境を提供するストローマ細胞を利用して造血幹細胞を分化させずに維持、増殖させる試みがなされている (Moore K. A., Blood, 89:12 4337-4347 1997)。また、W099/03980には、マウス胎児のAGM (Aorta-Gonad-Mesonephros) 領域から株化された、造血幹細胞および造血前駆細胞の増殖または生存を支持し得るストローマ細胞株が開示されている。

これまでの造血細胞に作用する因子に加え、ストローマ細胞とともに、あるいはサイトカインなどの刺激因子とともに、あるいは単独で、造血幹細胞、および造血前駆細胞を効率的に増幅させる効果を持つ新たなペプチドを見いだすことが可能であると考えられる。

発明の概要

ストローマ細胞と造血幹細胞および造血前駆細胞の共培養により、造血幹細胞および造血前駆細胞の生体外での増殖または生存を支持することが可能であることから、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する因子がストローマ細胞により生産されていることが予想される。本発明は、ストローマ細胞から、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する因子を提供することを課題とするものである。

本発明者らは、前述の如く、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する因子がマウス由来ストローマ細胞により生産されていることを予想した。そして、ストローマ細胞の中には、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する能力（以下、「造血幹細胞支持活性」ということがある）を持つストローマ細胞と造血幹細胞支持活性をもたないストローマ細胞が存在することに注目した。本発明者らは、このような能力の違いは、造血幹細胞支持活性を担う因子をコードする遺伝子の発現が造血幹細胞支持活性を持つストローマ細胞では亢進し、造血幹細胞支持活性を持たないストローマ細胞では低いことによると推測し、

造血幹細胞支持活性を有する細胞において発現の高い遺伝子の中から造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する因子を同定することが可能であると考えた。その結果、造血幹細胞支持活性を有するAGM-s3-A9細胞で発現が高く、造血幹細胞支持活性を有さないAGM-s3-A7細胞で発現が低い、あるいは発現していない遺伝子を同定し、これらの遺伝子群を強発現させた細胞の造血幹細胞支持活性が評価することにより、本発明を完成するに至った。

すなわち、本発明は以下のとおりである。

(1) 以下の(A)または(B)のポリペプチドをコードするDNA。

(A) 配列番号19、配列番号23、および、配列番号25からなる群から選ばれるアミノ酸配列を少なくとも有するポリペプチド。

(B) (A)に記載のアミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸が置換、欠失または挿入されたアミノ酸配列を有し、かつ、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する活性を有するポリペプチド。

(2) 以下の(a)または(b)のDNAである(1)記載のDNA。

(a) 配列番号18において塩基番号1～444からなる塩基配列、配列番号22において塩基番号642～1370からなる塩基配列、および、配列番号24において塩基番号132～506からなる塩基配列からなる群から選ばれる塩基配列を少なくとも有するDNA。

(b) (a)に記載の塩基配列を有するDNAまたは同DNAから調製され得るプローブとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する活性を有するポリペプチドをコードするDNA。

(3) 前記ストリンジェントな条件が、 $6\times$ SSC、 $5\times$ Denhardt、0.5% SDS、 68°C (SSC; 3M NaCl、0.3M クエン酸ナトリウム) ($50\times$ Denhardt; 1% BSA、1% ポリビニルピロリドン、1% Ficoll 400) または $6\times$ SSC、 $5\times$ Denhardt、0.5% SDS、50% ホルムアミド、 42°C である(2)記載のDNA。

(4) (1)～(3)のいずれかに記載のDNAを発現可能な形態で含む発現ベクター。

(5) (1)～(3)のいずれかに記載のDNAが発現可能な形態で導入された細胞。

(6) (1)～(3)のいずれかに記載のDNAの発現産物であり、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する活性を有するポリペプチド。

(7) 配列番号19、配列番号23、および、配列番号25からなる群から選ばれるアミノ酸配列、または、このアミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸が置換、欠失または挿入されたアミノ酸配列を有する(6)記載のポリペプチド。

(8) ポリエチレングリコール(PEG)、デキストラン、ポリ(N-ビニルピロリドン)、ポリプロピレングリコールホモポリマー、ポリプロピレンオキシド/エチレンオキシドのコポリマー、ポリオキシエチル化ポリオール、ポリビニルアルコールのいずれか、またはそれらの2種以上の組合わせによって修飾された(6)または(7)に記載のポリペプチド。

(9) (6)～(8)のいずれかに記載のポリペプチドに結合するモノクローナル抗体。

(10) 以下の(A)または(B)のポリペプチドをコードするDNAが発現したストローマ細胞を造血幹細胞または造血前駆細胞と共培養することを含む、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する方法。

(A) 配列番号9、配列番号11、配列番号13、配列番号15、配列番号17、配列番号19、配列番号21、配列番号23、配列番号25、配列番号27、および、配列番号29からなる群から選ばれるアミノ酸配列を少なくとも有するポリペプチド。

(B) (A)に記載のアミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸が置換、欠失または挿入されたアミノ酸配列を有し、かつ、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する活性を有するポリペプチド。

(11) DNAが以下の(a)または(b)のDNAである(10)記載の方法。

(a) 配列番号8において塩基番号1～1671からなる塩基配列、配列番号10において塩基番号1～1674からなる塩基配列、配列番号12において塩基番号1～366からなる塩基配列、配列番号14において塩基番号84～1121から

なる塩基配列、配列番号 16 において塩基番号 1～1035 からなる塩基配列、配列番号 18 において塩基番号 1～444 からなる塩基配列、配列番号 20 において塩基番号 1～444 からなる塩基配列、配列番号 22 において塩基番号 642～1370 からなる塩基配列、配列番号 24 において塩基番号 132～506 からなる塩基配列、配列番号 26 において塩基番号 1～2487 からなる塩基配列、および、配列番号 28 において塩基番号 1～2496 からなる塩基配列からなる群から選ばれる塩基配列を少なくとも有する DNA。

(b) (a) に記載の塩基配列を有する DNA または同 DNA から調製され得るプローブとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する活性を有するポリペプチドをコードする DNA。

(12) 以下の (A) または (B) のポリペプチドであって、その存在下で造血幹細胞または造血前駆細胞を培養したときに造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する活性を示すポリペプチドの存在下で造血幹細胞または造血前駆細胞を培養することを含む、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する方法。

(A) 配列番号 9、配列番号 11、配列番号 13、配列番号 15、配列番号 17、配列番号 19、配列番号 21、配列番号 23、配列番号 25、配列番号 27、および、配列番号 29 からなる群から選ばれるアミノ酸配列を少なくとも有するポリペプチド。

(B) (A) に記載のアミノ酸配列において、1 若しくは数個のアミノ酸が置換、欠失または挿入されたアミノ酸配列を有し、かつ、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する活性を有するポリペプチド。

(13) 以下の (A) または (B) のポリペプチドであって、その存在下で造血幹細胞または造血前駆細胞を培養したときに、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する活性を示すポリペプチドを有効成分として含む、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持し得る医薬組成物。

(A) 配列番号 9、配列番号 11、配列番号 13、配列番号 15、配列番号 17、

配列番号19、配列番号21、配列番号23、配列番号25、配列番号27、および、配列番号29からなる群から選ばれるアミノ酸配列を少なくとも有するポリペプチド。

(B) (A)に記載のアミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸が置換、欠失または挿入されたアミノ酸配列を有し、かつ、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する活性を有するポリペプチド。

本明細書において用いる用語につき、以下の通り定義する。

造血幹細胞とは、血球の全ての分化系列に分化し得る多分化能を有する細胞であり、かつ、その多分化能を維持したまま自己複製することが可能な細胞である。造血前駆細胞とは、単一の血液細胞分化系列あるいは、全てではない複数の分化系列に分化できる細胞を称する。ストローマ細胞とは、生体内の造血環境を模してインビトロで造血環境を再現させようとするときに使用できる造血幹細胞と共培養に供することが可能な細胞を指す。試験管内で造血細胞と共培養できる細胞であればその由来を問わない。

赤血球前駆細胞は、試験管内の培養環境で維持増幅させることは困難であり急速に消失してしまう。赤血球前駆細胞の維持、増殖が確認される場合は、より未分化な造血幹細胞あるいは造血前駆細胞が維持、増殖されることで、赤血球前駆細胞が継続的に産生されていることと考えられる。従い、ヒト造血幹細胞の評価系では、赤血球前駆細胞(BFU-E、CFU-E、CFU-Emix)が維持、増殖されているかを指標とすることで造血幹細胞あるいは未分化な造血前駆細胞が増殖していることを確認することができる。

図面の簡単な説明

図1は、CD34陽性造血幹細胞とAGM-s3サブクローンA9、A7、D11とを2週間共培養した後のコロニーアッセイによる造血幹細胞および造血前駆細胞の増殖状況を示す図である。

図2は、CD34陽性造血幹細胞とAGM-s3サブクローンA9、A7、またはOP9細胞とを2週間共培養した後のコロニーアッセイによる造血幹細胞および造血前駆細胞の増

殖状況を示す図である。

図3は、各種ストローマ細胞株と共培養した造血幹細胞を移植された放射線照射マウスの末梢血における、骨髓球系およびリンパ球系細胞のドナー由来細胞キメリズムの経時変化を示す図である。

図4は、CD34陽性造血幹細胞と、遺伝子SCR-2を強発現するAGM-S3-A9細胞（A9/SCR-2）、コントロールベクターを導入したAGM-S3-A9細胞（A9/pMX1G）、または、AGM-S3-A9細胞（A9）とを2週間共培養した後のコロニーアッセイによる造血幹細胞および造血前駆細胞の増殖状況を示す図である。

図5は、CD34陽性造血幹細胞と、遺伝子SCR-2を強発現するAGM-S3-A7細胞（A7/SCR-2）、コントロールベクターを導入したAGM-S3-A7細胞（A7/pMX1G）、または、AGM-S3-A7細胞（A7）とを2週間共培養した後のコロニーアッセイによる造血幹細胞および造血前駆細胞の増殖状況を示す図である。

図6は、遺伝子SCR-3を強発現するAGM-S3-A7細胞（A7/SCR-3）、コントロールベクターを導入したAGM-S3-A7細胞（A7/pMX1G）、または、AGM-S3-A7細胞（A7）と共培養した造血幹細胞を移植された放射線照射マウスの末梢血における、骨髓球系およびリンパ球系細胞のドナー由来細胞キメリズムの経時変化を示す図である。

図7は、CD34陽性造血幹細胞と、遺伝子SCR-4を強発現するAGM-S3-A9細胞（A9/SCR-4）、コントロールベクターを導入したAGM-S3-A9細胞（A9/pMX1G）、または、AGM-S3-A9細胞（A9）とを2週間共培養した後のコロニーアッセイによる造血幹細胞および造血前駆細胞の増殖状況を示す図である。

図8は、遺伝子SCR-5を強発現するAGM-S3-A7細胞（A7/SCR-5）、コントロールベクターを導入したAGM-S3-A7細胞（A7/pMX1G）、または、AGM-S3-A7細胞（A7）と共培養した造血幹細胞を移植された放射線照射マウスの末梢血における、骨髓球系およびリンパ球系細胞のドナー由来細胞キメリズムの経時変化を示す図である。

図9は、CD34陽性造血幹細胞と、遺伝子SCR-6を強発現するAGM-S3-A9細胞（A9/SCR-6）、コントロールベクターを導入したAGM-S3-A9細胞（A9/pMX1G）、または、AGM-S3-A9細胞（A9）とを2週間共培養した後のコロニーアッセイによる造血幹細胞および造血前駆細胞の増殖状況を示す図である。

図10は、CD34陽性造血幹細胞と、遺伝子SCR-7を強発現するAGM-S3-A9細胞（A9/SCR-7）、コントロールベクターを導入したAGM-S3-A9細胞（A9/pMX1G）、または、AGM-S3-A9細胞（A9）とを2週間共培養した後のコロニーアッセイによる造血幹細胞および造血前駆細胞の増殖状況を示す図である。

図11は、CD34陽性造血幹細胞と、遺伝子SCR-8を強発現するAGM-S3-A9細胞（A9/SCR-8）、コントロールベクターを導入したAGM-S3-A9細胞（A9/pMX1G）、または、AGM-S3-A9細胞（A9）とを2週間共培養した後のコロニーアッセイによる造血幹細胞および造血前駆細胞の増殖状況を示す図である。

発明の詳細な説明

以下、本発明を詳細に説明する。

造血幹細胞支持活性を有するAGM-s3-A9細胞で発現が高く、造血幹細胞支持活性を有さないAGM-s3-A7細胞で発現が低い、あるいは発現していない遺伝子として同定され、それを強発現させた細胞において造血幹細胞支持活性が増強または付与されたことが確認された遺伝子は以下のものである。なお、遺伝子の番号は便宜のために本発明者らにより付与されたものである。

遺伝子SCR-2

GenBank登録番号AF185613のマウス遺伝子Mus musculus glypican-1 (GPC-1) と同一の遺伝子である。

マウス由来のものの塩基配列及びその塩基配列から推測されるアミノ酸配列を配列番号8に示す。また、アミノ酸配列のみを配列番号9に示す。

GPC-1のヒトアミノ酸配列はGenBank登録番号P35052に、ヒト塩基配列はGenBank登録番号AX020122でみることができる。ヒトの遺伝子でも同様の活性が検出されるところと考えてよい。

ヒト由来のものの塩基配列及びその塩基配列から推測されるアミノ酸配列を配列番号10に示す。また、アミノ酸配列のみを配列番号11に示す。

グリピカン（Glypican）は、細胞表面に存在する主要なヘパラン硫酸プロテオグリカンであり、システインに富む球状領域（cysteine rich globular domain）、短いグリコサミ

ノグリカン結合領域、グリコシルフォスファチジルイノシトール膜結合領域の特徴的な構造を有している。これまでにグリピカン-1からグリピカン-6までの6種類のファミリー遺伝子が発見されている。(J Biol Chem 1999 Sep 17;274(38):26968-77、Glypican-6, a new member of the glypican family of cell surface heparan sulfate proteoglycans. Veugeliers M, De Cat B, Ceulemans H, Bruystens AM, Coomans C, Durr J, Vermeesch J, Marynen P, David G)

GPC-1の生物学活性については、種々の報告がなされている。ヘパリン結合性の成長因子(fibroblast growth factor 2 (FGF2)、heparin-binding EGF-like growth factor (HB-EGF))の増殖刺激活性を調節し、これらの増殖因子の刺激によるオートクライン増殖するガン細胞の増殖を促進する。(J Clin Invest 1998 Nov 1;102(9):1662-73、The cell-surface heparan sulfate proteoglycan glypican-1 regulates growth factor action in pancreatic carcinoma cells and is over expressed in human pancreatic cancer. Kleeff J, Ishiwata T, Kumbasar A, Friess H, Buchler MW, Lander AD, Korc M)

HGF (hepatocyte growth factor) と結合し、抗原特異的なB細胞のサイトカインに対する反応性を促進する。細胞と接着分子との会合に関与し細胞の浸潤性に関与する(J Biol Chem 1998 Aug 28;273(35):22825-32、Heparan sulfate proteoglycans as adhesive and anti-invasive molecules. Syndecans and glypican have distinct functions. Liu W, Litwack ED, Stanley MJ, Langford JK, Lander AD, Sanderson RD)。これらの知見は、GPC-1が種々の細胞刺激因子の活性発現に関与することを示している。また、グリピカンファミリー遺伝子の骨髄での発現を確認した報告もある(Biochem J 1999 Nov 1;343 Pt 3:663-8、Expression of proteoglycan core proteins in human bone marrow stroma. Schofield KP, Gallagher JT, David G)。しかし、これらの報告では、造血幹細胞あるいは造血前駆細胞へのGPC-1の作用について記載されていない。

遺伝子SCR-3

GenBank登録番号U15209、Mus musculus chemokine MMRP2 mRNA、U19482、Mus m

usculus C10-like chemokine mRNA、U49513、Mouse macrophage inflammatory protein-1gamma mRNAのマウス遺伝子と同一の遺伝子である。

マウス由来のものの塩基配列及びその塩基配列から推測されるアミノ酸配列を配列番号12に示す。また、アミノ酸配列のみを配列番号13に示す。

遺伝子SCR-4

マウス由来のものの塩基配列及びその塩基配列から推測されるアミノ酸配列を配列番号14に示す。また、アミノ酸配列のみを配列番号15に示す。

この配列は、GenBank登録番号AF131820 Homo sapiens clone 25077 mRNA、sequenceと高い相同性が確認され、AF131820のマウスオーソログと判断される。また、この配列はW00066784に記載されている。

ヒト由来のものの塩基配列及びその塩基配列から推測されるアミノ酸配列を配列番号16に示す。また、アミノ酸配列のみを配列番号17に示す。

遺伝子SCR-5

マウス由来のものの塩基配列及びその塩基配列から推測されるアミノ酸配列を配列番号18に示す。また、アミノ酸配列のみを配列番号19に示す。

この配列は、GenBank登録番号AF325503 Homo sapiens esophageal cancer related gene 4 protein (ECRG4) mRNAと高い相同性が確認され、AF325503のマウスオーソログと判断される。

ヒト由来のものの塩基配列及びその塩基配列から推測されるアミノ酸配列を配列番号20に示す。また、アミノ酸配列のみを配列番号21に示す。

遺伝子SCR-6

マウス由来のものの塩基配列及びその塩基配列から推測されるアミノ酸配列を配列番号22に示す。また、アミノ酸配列のみを配列番号23に示す。

遺伝子SCR-7

マウス由来のものの塩基配列及びその塩基配列から推測されるアミノ酸配列を配列番号24に示す。また、アミノ酸配列のみを配列番号25に示す。

遺伝子SCR-8

GenBank登録番号AB009673 *Mus musculus* mRNA for ADAM23、と同一の遺伝子である。

マウス由来のものの塩基配列及びその塩基配列から推測されるアミノ酸配列を配列番号26に示す。また、アミノ酸配列のみを配列番号27に示す。

この配列は、特開平11-155574に記載された配列と高い相同性を示し、従って、特開平11-155574に記載の配列はヒトオーソログ遺伝子と判断される。

ヒト由来のものの塩基配列及びその塩基配列から推測されるアミノ酸配列を配列番号28に示す。また、アミノ酸配列のみを配列番号29に示す。

これらの遺伝子の産物であるポリペプチドは、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する活性を有する。造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する活性を有するとは、そのポリペプチドの存在下で、または、そのポリペプチドを発現するストローマ細胞の存在下で、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存が支持されることをいう。

従って、本発明は、上記ポリペプチド及びそれをコードするDNAの用途、及び、そのうちの新規なポリペプチド及びそれをコードするDNAを提供するものである。

上記のDNAによりコードされるポリペプチドである幹細胞増殖支持因子は、前記DNAを適当な宿主細胞に導入して形質転換細胞を調製し、該形質転換細胞中で前記DNAを発現させることによって製造することができる。

上記のDNAは、コードされる幹細胞増殖支持因子の活性が損なわれない限り、1若しくは数個のアミノ酸が置換、欠失または挿入された同因子をコードするものであってもよい。このような幹細胞増殖支持因子と実質的に同一のポリペプチドをコードするDNAは、例えば部位特異的変異法によって、特定の部位のアミノ酸残

基が置換、欠失、挿入、付加、または逆位を含むように塩基配列を改変することによって得られる。

上記のような変異を有するDNAを、適当な細胞で発現させ、発現産物の造血幹細胞支持活性を調べることにより、幹細胞増殖支持因子と実質的に同一の機能を有するポリペプチドをコードするDNAが得られる。また、変異を有する幹細胞増殖支持因子をコードするDNAまたはこれを保持する細胞から、例えば配列番号8、10、12、14、16、18、20、22、24、26または28記載の塩基配列を有するDNA、またはこれらのDNAから調製され得るプローブとストリンジエントな条件下でハイブリダイズし、かつ、造血幹細胞支持活性を有するタンパク質をコードするDNAを単離することによっても、幹細胞増殖支持因子と実質的に同一のタンパク質をコードするDNAが得られる。プローブの長さは通常には300～1000塩基である。ストリンジエントな条件としては、例えば、70%以上、好ましくは80%以上の相同性 (DNASIS version 3.7 (日立ソフトウェアエンジニアリング社製) のcompare機能のhomology searchを用いて特定することができる) を有するDNAがハイブリダイズし、それよりも相同性の低いDNA同士がハイブリダイズしない条件が挙げられる。前記ストリンジエントな条件としては、6×SSC、5×Denhardt、0.5% SDS、68°C (SSC ; 3M NaCl、0.3M クエン酸ナトリウム) (50×Denhardt ; 1% BSA、1% ポリビニルピロリドン、1% Ficoll 400) または6×SSC、5×Denhardt、0.5% SDS、50% ホルムアミド、42°Cなどが挙げられる。

上記のDNAを発現させるための宿主としては、エシェリヒア・コリ (*Escherichia coli*)、酵母等の微生物、動物または植物由来の培養細胞等が用いられる。宿主としては、哺乳動物由来の培養細胞が好ましい。尚、原核細胞を宿主とする場合は、シグナルペプチド部位を、 β -ラクタマーゼ (bla)、アルカリフォスファターゼ (phoA)、外膜タンパク質A (ompA) 等の原核細胞に適したリーダー配列に置換するか、成熟型タンパク質のN末端部位にメチオニン残基を付加した状態で発現させると良い。

上記のDNAの宿主細胞への導入は、例えば、宿主に対応したベクターに、上記のDNAを発現可能な形態で組み込み、得られる組換えベクターを宿主細胞に導入

することによって行うことができる。

哺乳動物由来の培養細胞としては、CHO細胞、293細胞、COS7細胞等が挙げられる。上記のDNAを発現させるためのプロモーターなどの発現調節配列は、上記遺伝子固有のものであっても、他の遺伝子由来のもの、例えばサイトメガロウイルスプロモーター、エロンゲーションファクター1プロモーター等であってもよい。

また、動物培養細胞用のベクターとしては、プラスミドベクター、レトロウイルスベクター、アデノウイルスベクター (Neering, S.J., Blood, 88:1147, 1996)、ヘルペスウイルスベクター (Dilloo, D., Blood, 89:119, 1997)、HIVベクターなどが挙げられる。

組換えベクターを培養細胞に導入するには、培養細胞の形質転換に通常用いられている方法、例えば、リン酸カルシウム共沈殿法、リボソーム法、DEAEデキストラン法、エレクトロポレーション法、マイクロインジェクション法等が用いられる。

本発明のポリペプチドには、配列番号9、配列番号11、配列番号13、配列番号15、配列番号17、配列番号19、配列番号21、配列番号23、配列番号25、配列番号27、または、配列番号29に示すアミノ酸配列を有するポリペプチドに加えて、このアミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸が置換、欠失または挿入されたアミノ酸配列を有し、かつ、造血幹細胞支持活性を有するポリペプチドも含まれる。すなわち、マウスおよびヒト由来の幹細胞増殖支持因子にアミノ酸が置換、欠失または挿入等の改変を加えたものであっても、幹細胞増殖支持因子の本質的な機能を保持するものは、幹細胞増殖支持因子と実質的に同等なものといふことができる。

このような修飾された幹細胞増殖支持因子は、幹細胞増殖支持因子をコードするDNAまたは該DNAを保持する宿主を変異剤で処理するか、または該DNAに部位特異的変異法によって特定の部位のアミノ酸が置換、欠失または挿入されるように変異を導入することによって、取得することができる。得られた変異ポリペプチドが、造血幹細胞支持活性を保持することは、後記実施例に示すように、変異型ポリペプチドの存在下で培養した造血幹細胞を、放射線照射したマウスへ移植し、移

植後の末梢血液像を経時的に調べることによって、確認することができる。

また、アミノ酸の欠失については、造血幹細胞支持活性を有する限り、N末端および／またはC末端のアミノ酸配列を欠失したフラグメントであってもよい。N末端および／またはC末端のアミノ酸配列を欠失したフラグメントは通常の方法により得ることができ、フラグメントが、造血幹細胞支持活性を保持することは、変異ポリペプチドについて説明したのと同様にして確認することができる。特に、アミノ酸配列にシグナル配列や膜貫通領域と予測される部分がある場合には、それを指標にして造血幹細胞支持活性を有するフラグメントを予測できる。例えば、ヒトSCR-8のコードするタンパク質は、タイプIの1回膜貫通型のタンパク質であり、膜貫通領域を欠失した可溶性タンパク質であっても造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する活性を有することが予測される。膜貫通領域は、アミノ酸配列に基づいて公知のプログラムにより予測できる。例えば、PSORT IIと呼ばれるプログラム（インターネットにより入手可能、URL: <http://psort.nibb.ac.jp/index.html>）により予測した場合、膜貫通領域は配列番号29において790～806位のアミノ酸であり、789位までのフラグメントでも造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する活性を有することが予測される。

上記DNAは、本発明によってそれらの塩基配列が明らかにされたので、それらの配列に基づいて作製したオリゴヌクレオチドをプライマーとするPCRによって、または該配列に基づいて作製したオリゴヌクレオチドをプローブとするハイブリダイゼーションによって、マウスまたはヒトのcDNAライブラリーもしくは染色体DNAライブラリーから、単離することによっても取得することができる。

本発明のDNAは、本発明を完成するに際しては、後述するように、造血幹細胞支持活性を有するマウスストローマ細胞株であるAGM-s3-A9細胞のcDNAライブラリーから、SBH法(Sequencing By Hybridization) (Drmanac, S., Nat. Biotechnol., 16, 54, 1998; Drmanac, R., Methods. Enzymol., 303, 165, 1999) によって単離した。造血幹細胞支持活性を有するマウスストローマ細胞株は、W099/03980号記載の方法によって、あるいは理化学研究所細胞開発銀行またはATCCより取得することができる。

以下に、SBH法の概要について述べる。配列の異なる8または9塩基よりなるプローブを準備する。標的遺伝子の中にプローブと一致する配列が存在すれば、そのプローブは遺伝子とハイブリダイズすることができ、ハイブリダイズしたことはプローブをRIあるいは蛍光色素でラベルしておくことで、容易に確認できる。ライブラリのクローンを一つずつピックアップしてメンブランにプロットし、上記のプローブと繰り返しハイブリダイゼーションを行い、各クローンがどのプローブとハイブリダイズしたかを検出する。遺伝子ごとにハイブリダイズするプローブの組み合わせは決まっているので、同一の遺伝子にハイブリダイズするプローブの組み合わせは一定である。すなわち、ハイブリダイズするプローブの組み合わせから同一の遺伝子をつきのグループ（クラスター）として同定することができる。cDNAライブラリの個々のクローンを、ハイブリダイズするプローブのパターンにより分類、計数することにより、個々の遺伝子のクローンがライブラリ中に何個含まれるか知ることができる。このようにして、各遺伝子のライブラリ中の発現頻度を同定することが可能である。

造血幹細胞支持活性を有する細胞、および同活性を有しない細胞からcDNAライブラリを作製し、クラスタリングを行い、各細胞間での遺伝子発現状況を比較し、支持細胞で特異的に発現が亢進している遺伝子を選択する。これらの遺伝子についてさらに、前述の各細胞での発現状況を、ノーザン解析によりさらに検討し、造血幹細胞支持活性を有する細胞に発現が高い遺伝子を取得する。

上記の遺伝子は、上記の過程を経て取得された支持細胞に特異的に発現が高い遺伝子であり、AGM-s3-A9細胞由来cDNAライブラリより、全長遺伝子をクローン化した。

さらに、遺伝子産物の造血支持能について評価するため遺伝子のORFを含む遺伝子断片をストローマ細胞にレトロウイルスベクターを用いて遺伝子導入し、同細胞の造血幹細胞造支持活性の変化を検討した。実際には、遺伝子を導入していないストローマ細胞またはコントロールベクターを導入したストローマ細胞と遺伝子を導入したストローマ細胞のそれぞれと、マウス造血幹細胞を共培養したのち、放射線照射マウスに造血細胞を移植し、共培養した造血細胞の生着について検討した。

その結果、遺伝子を導入した細胞で共培養した造血幹細胞を移植したマウスでは、遺伝子を導入していない細胞と比較して、移植後のキメリズムが上昇していた。この結果は、遺伝子を発現させたストローマ細胞では、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖、生存を支持する活性が増強されたまたは付与されたことを示す。この結果から、上記の遺伝子の発現は、ストローマ細胞において上記活性を増強または付与する作用を持つことが明らかとなった。したがい、上記の遺伝子の産物は造血幹細胞または造血前駆細胞に作用し、その生存あるいは増殖を支持する活性を有する、あるいは、ストローマ細胞に作用し造血幹細胞支持活性を増強または付与する活性を有することが明らかになった。

本発明のポリペプチドは、造血幹細胞または造血前駆細胞に作用し、その生存あるいは増殖を支持する活性を有するものである場合、すなわち、その存在下で造血幹細胞または造血前駆細胞を培養したときに造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する活性を示す場合には、ヒト造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または支持のための医薬として用いることができる。当該医薬組成物は、ヒトの造血幹細胞または造血前駆細胞の生体外での増殖または生存の支持に利用することができる。末梢血幹細胞移植、臍帯血幹細胞移植などの造血幹細胞移植療法では、移植する造血幹細胞数が十分量取得できず移植が実施できないときがある。十分量の幹細胞が取得できない場合でも、該ポリペプチドを利用することで造血幹細胞数を試験管内で増幅し、必要量の造血幹細胞を取得し移植することが可能である。すなわち、該ポリペプチドを培養液に含む様な培地で造血幹細胞を培養することで、造血幹細胞を分化させずに増幅することが可能である。その際に、種々のサイトカインを添加し、造血幹細胞をより効率的に増幅することも可能と考えられる。

本発明のポリペプチドを含む培地で造血幹細胞または造血前駆細胞を培養する際、用いる造血幹細胞または造血前駆細胞は、これらのいずれか一方が単離されたものであってもよく、これらの両方であってもよい。また、造血幹細胞または造血前駆細胞の少なくとも一方を含み、さらに他の造血細胞を含むものであってもよい。さらには、造血幹細胞または造血前駆細胞を含む細胞群から分画された造血幹細胞または造血前駆細胞を含む分画であってもよい。

本発明の方法における造血幹細胞および造血前駆細胞の採取源としては、ヒトおよびマウス等の哺乳動物の胎児肝臓、骨髓、胎児骨髓、末梢血、サイトカインおよび／または抗癌剤の投与によって幹細胞を動員した末梢血、および臍帯血等が挙げられ、造血幹細胞を含む組織であればいずれであってもよい。

造血幹細胞または造血前駆細胞を培養するにあたっては、いわゆる培養用のシャーレ、フラスコを用いた培養法が可能であるが、培地組成、pHなどを機械的に制御し、高密度での培養が可能なバイオリアクターによって、その培養系を改善することもできる(Schwartz, Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.,88:6760,1991; Koller, M.R., Bio/Technology, 11:358, 1993; Koller, M.R., Blood, 82: 378, 1993; Palsson, B.O., Bio/Technology, 11:368, 1993)。

本発明のポリペプチドをコードするDNAを発現するストローマ細胞は、DNAの発現に関して記載したようにして得ることができる。

ストローマ細胞と造血細胞の共培養は、骨髓を採取したのち、そのまま培養を行うことで可能である。また、骨髓を採取した上で、ストローマ細胞、造血細胞、その他の細胞群などを分離し、骨髓を採取した個人以外のストローマ細胞、造血細胞の組み合わせで共培養を実施することも可能である。また、ストローマ細胞のみを培養し増殖させた後に造血細胞を添加し共培養を実施することも可能である。その際に、ストローマ細胞を、細胞刺激因子を培養系に添加することによって、より有効に増殖、生存を支持することができる。このような細胞刺激因子として、具体的には、SCF（幹細胞因子）、IL-3（インターロイキン-3）、GM-CSF（顆粒球マクロファージ・コロニー刺激因子（granulocyte/macrophage colony-stimulating factor））、IL-6（インターロイキン-6）、TPO（トロンボポエチン）、G-CSF（顆粒球コロニー刺激因子（granulocyte colony-stimulating factor））、TGF- β （トランスフォーミング成長因子- β ）、MIP-1 α (Davatelis, G., J. Exp. Med. 167:1939, 1988)、などのサイトカインに代表される増殖因子、EPO（エリスロポエチン）のような造血ホルモン、ケモカイン、Wnt遺伝子産物、ノッチリガンドのような分化増殖調節因子、発生調節因子などがあげられる。

また、本発明のポリペプチドが、造血幹細胞または造血前駆細胞に作用し、その

生存あるいは増殖を支持する活性を有するものである場合、すなわち、その存在下で造血幹細胞または造血前駆細胞を培養したときに造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する活性を示す場合には、ストローマ細胞の非存在下で本発明のポリペプチドの組換え体を単独で、あるいは細胞刺激因子の存在下に造血幹細胞または造血前駆細胞に作用させることで、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖、生存を維持することが可能である。この際使用される細胞刺激因子としては、上記に記載してある細胞刺激因子などが挙げられる。

培養に用いる培地としては、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖、生存が害されない限り特に制限されないが、例えばMEM- α 培地 (GIBCO BRL)、SF-02培地 (三光純薬)、Opti-MEM培地 (GIBCO BRL)、IMDM培地 (GIBCO BRL)、PRMI1640培地 (GIBCO BRL)、が好ましいものとして挙げられる。培養温度は、通常25~39°C、好ましくは33~39°Cである。また、培地に添加する物質としては、ウシ胎児血清、ヒト血清、ウマ血清、インシュリン、トランスフェリン、ラクトフェリン、エタノールアミン、亜セレン酸ナトリウム、モノチオグリセロール、2-メルカプトエタノール、ウシ血清アルブミン、ビルビン酸ナトリウム、ポリエチレングリコール、各種ビタミン、各種アミノ酸、CO₂は、通常、4~6%であり、5%が好ましい。

造血幹細胞は、全ての造血系の分化系列へ分化が可能なので、試験管内で造血幹細胞を増幅後種々の細胞種に分化させ移植することが可能である。例えば、赤血球が必要であれば、患者の幹細胞を培養し増幅した後、EPOなどの赤血球分化誘導を促進する因子を利用して赤血球を主成分とする造血細胞を人為的に産生することが可能である。

本発明のポリペプチドを用いて培養された造血幹細胞または造血前駆細胞は、従来の骨髄移植や臍帯血移植に代わる血液細胞移植用の移植片として用いることができる。造血幹細胞の移植は、移植片が半永久的に生着させられることから、従来の血液細胞移植治療を改善することができる。

造血幹細胞の移植は、白血病に対する全身X線療法や高度化学療法を行う際に、これらの治療と組み合わせる他、種々の疾患に用いることができる。例えば、固形癌患者の化学療法、放射線療法等の骨髄抑制が副作用として生じる治療を実施する

際に、施術前に骨髓を採取しておき、造血幹細胞、造血前駆細胞を試験管内で増幅し、施術後に患者に戻すことで、副作用による造血系の障害から早期に回復させることができ、より強力な化学療法を行えるようになり、化学療法の治療効果を改善する事ができる。また、本発明により得られる造血幹細胞ならびに造血前駆細胞を各種血液細胞に分化させ、それらを患者の体内に移入することにより、各種血液細胞の低形成により不全な状況を呈している患者の改善を図ることができる。また、再生不良性貧血などの貧血を呈する骨髓低形成に起因する造血不全症を改善することができる。その他、本発明の方法による造血幹細胞の移植が有効な疾患としては、慢性肉芽腫症、重複免疫不全症候群、無ガンマグロブリン血症、Wiskott-Aldrich症候群、後天性免疫不全症候群（AIDS）等の免疫不全症候群、サラセミア、酵素欠損による溶血性貧血、鎌状赤血球症等の先天性貧血、Gaucher病、ムコ多糖症等のリソゾーム蓄積症、副腎白質変性症、各種の癌または腫瘍等が挙げられる。

造血幹細胞の移植は、用いる細胞以外は、従来行われている骨髓移植や臍帯血移植と同様に行えばよい。

上記のような造血幹細胞移植に用いられる可能性のある造血幹細胞の由来は、骨髓に限られず、前述したような胎児肝臓、胎児骨髓、末梢血、サイトカインおよび／または抗癌剤の投与によって幹細胞を動員した末梢血、および臍帯血等を用いることができる。

移植片は、本発明の方法によって産生した造血幹細胞および造血前駆細胞の他に、緩衝液等を含む組成物としてもよい。

また、本発明により産生される造血幹細胞または造血前駆細胞は、ex vivoの遺伝子治療に用いることができる。造血幹細胞に対する遺伝子治療は、幹細胞が静止期にあり染色体との組換え率が低いこと、また、培養中に幹細胞が分化してしまうこと等から困難であったが、本発明を利用することによって、幹細胞を分化させずに増幅でき、遺伝子導入効率に大幅な改善が見込める。この遺伝子治療は、造血幹細胞または造血前駆細胞に外来遺伝子（治療用遺伝子）を導入し、得られる遺伝子導入細胞を用いて行われる。導入される外来遺伝子は、疾患によって適宜選択される。血液細胞を標的細胞とする遺伝子治療の対象となる疾患としては、慢性肉芽腫

症、重複免疫不全症候群、無ガンマグロブリン血症、Wiskott-Aldrich症候群、後天性免疫不全症候群（AIDS）等の免疫不全症候群、サラセミア、酵素欠損による溶血性貧血、鎌状赤血球症等の先天性貧血、Gaucher病、ムコ多糖症等のリソゾーム蓄積症、副腎白質変性症、各種の癌または腫瘍等が挙げられる。

造血幹細胞または造血前駆細胞に治療用遺伝子を導入するには、通常動物細胞の遺伝子導入に用いられる方法、例えば、モロニーマウス白血病ウイルス等のレトロウイルスベクター、アデノウイルスベクター、アデノ随伴ウイルス（AAV）ベクター、単純ヘルペスウイルスベクター、HIVベクター等のウイルス由来の遺伝子治療に用いられる動物細胞用ベクター（遺伝子治療用ベクターについては、Verma, I.M., Nature, 389:239, 1997 参照）を用いる方法、リン酸カルシウム共沈法、DEAE-デキストラン法、エレクトロポレーション法、リボソーム法、リボフェクション法、マイクロインジェクション法等を用いることができる。これらの中では、標的細胞の染色体DNAに組み込まれて恒久的に遺伝子の発現が期待できるという点から、レトロウイルスベクター、アデノ随伴ウイルスベクターまたはHIVベクターが好ましい。

例えば、アデノ随伴ウイルス（AAV）ベクターは、次のようにして作製することができる。まず、野生型アデノ随伴ウイルスDNAの両端のITR（inverted terminal repeat）の間に治療用遺伝子を挿入したベクタープラスミドと、ウイルスタンパク質を補うためのヘルパープラスミドを293細胞にトランスフェクションする。続いてヘルパーウイルスのアデノウイルスを感染させると、AAVベクターを含むウイルス粒子が産生される。あるいは、アデノウイルスの代わりに、ヘルパー機能を担うアデノウイルス遺伝子を発現するプラスミドをトランスフェクションしてもよい。次に、得られるウイルス粒子を造血幹細胞または造血前駆細胞に感染させる。ベクターDNA中において、目的遺伝子の upstream には、適当なプロモーター、エンハンサー、インシュレーター等を挿入し、これらによって遺伝子の発現を調節することが好ましい。さらに、治療用遺伝子に加えて薬剤耐性遺伝子等のマーカー遺伝子を用いると、治療用遺伝子が導入された細胞の選択が容易となる。治療用遺伝子は、センス遺伝子であってもアンチセンス遺伝子であってもよい。

遺伝子治療用組成物は、本発明の方法によって産生された造血幹細胞および造血前駆細胞の他に、緩衝液、新規の活性物質等を含む組成物としてもよい。

また、本発明のDNAを常法により発現ベクターに組み込み、遺伝子治療用のベクターを製造することができる。当該遺伝子治療用ベクターは、ヒトの造血幹細胞の維持・増殖を必要とする疾病の治療に有用である。すなわち、造血幹細胞に当該遺伝子治療ベクターを導入し、*in vitro*で培養することで造血幹細胞、造血前駆細胞を優位に増殖させることが可能となる。このように処理した造血幹細胞を体内に戻すことで、体内で造血幹細胞を増殖させることが可能になる。また、当該遺伝子治療ベクターを体内に移入することで体内での造血幹細胞の増殖を促進することが可能になる。あるいは、患者から取得した骨髄細胞をそのまま培養し当該遺伝子治療ベクターを移入することで培養系の中で造血幹細胞、前駆細胞を増殖させることが可能になる。あるいは、骨髄よりストローマ細胞を分離培養し得られるストローマ細胞、間質幹細胞 (mesenchymal stem cell) に当該遺伝子治療ベクターを移入することで、造血幹細胞支持能を付与または上昇させることが可能である。

また、実施例に示すとおり造血幹細胞支持能のないストローマ細胞に本発明のDNAを導入することにより造血幹細胞支持能を付与することが可能になることから、ヒトあるいはマウス由来のストローマ細胞に遺伝子移入することで造血幹細胞支持能を有するストローマ細胞を作製することができる。本発明のDNAを発現するストローマ細胞と造血幹細胞あるいは造血前駆細胞を共培養することで造血幹細胞あるいは造血前駆細胞を維持、増殖させ種々の治療に役立てることが可能である。

本発明のDNAがストローマ細胞に発現されることで、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖、生存が維持されることから、本発明のDNAの発現を指標にしてストローマ細胞の造血幹細胞支持能を評価することが可能である。その方法としては、本発明のDNAによりコードされるポリペプチドに対する抗体を用いてストローマ細胞での発現を確認することが可能である。また、塩基配列からPCRプライマーを作製し、目的ストローマ細胞からRNAを調製し、RT-PCRを実施することで本発明のDNAの発現を確認することも可能である。上記抗体については後述する。

また、本発明の医薬組成物は、ヒトに投与することもできる。本発明のポリペプチドを医療上許容される希釈剤、安定化剤、担体および／またはその他の添加物と混合することにより、ヒトの造血幹細胞または造血前駆細胞に対する増殖または支持作用を有する医薬組成物を製造することができる。その際、本発明のポリペプチドは、タンパク質の生体内での安定性を高める修飾剤によって修飾されていてもよい。このような修飾剤としては、ポリエチレングリコール (PEG)、デキストラン、ポリ (N-ビニルピロリドン)、ポリプロピレングリコールホモポリマー、ポリプロピレンオキシド/エチレンオキシドのコポリマー、ポリオキシエチル化ポリオール、ポリビニルアルコール等が挙げられる。PEGによるタンパク質の修飾は、例えば、PEGの活性エステル誘導体とタンパク質を反応させる方法、あるいは、PEGの末端アルデヒド誘導体とタンパク質とを還元剤の存在下で反応させる方法等によって行うことができる。このようなタンパク質の修飾については、特表平10-510980号に詳細に開示されている。

本発明の医薬組成物をヒトに投与することによって、抗癌剤の副作用による造血抑制からの回復、骨髓移植、末梢血幹細胞移植、臍帯血移植時の造血細胞の早期回復、再生不良性貧血(AA)、骨髓異形成症候群 (MDS) などの汎血球減少症の造血機能回復が期待できる。

本発明の抗体は、上記本発明のポリペプチドと特異的に反応する。本発明の抗体は、該ポリペプチドと特異的に反応し得るものであればモノクローナル抗体でもポリクローナル抗体でもよい。

本発明の抗体は、常法に従って調製することができ、例えば、アジュバントとともに抗原で動物を一回あるいは数週間をはさんで複数回追加免疫する生体内 (in vivo) の方法、免疫細胞を分離して適当な培養系で感作させる生体外 (in vitro) の方法のいずれかの方法によって調製し得る。本発明の抗体を産生し得る免疫細胞としては、例えば脾細胞、扁桃腺細胞、リンパ節細胞などがあげられる。

抗原として使用するポリペプチドは、必ずしも上記の本発明のポリペプチド全体を使用する必要はなく、該ポリペプチドの一部を抗原として使用してもよい。抗原が短いペプチド、特にアミノ酸20残基前後の場合は、キーホールリンペットヘモ

シアニンや牛血清アルブミンのような抗原性の高いキャリアタンパク質と化学修飾などによって結合させて用いるか、あるいは、キャリアタンパク質のかわりに分枝骨格を持つペプチド、例えばリジンコア MAPペプチド (Posnett et al., J. Biol. Chem. 263, 1719-1725, 1988; Lu et al., Mol. Immunol. 28, 623-630, 1991; Briand et al., J. Immunol. Methods 156, 255-265, 1992) と共有結合させて用いる。

アジュバントは、例えば、フロイントの完全、または不完全アジュバントや水酸化アルミニウムゲルなどが用いられる。抗原を投与する動物としては例えばマウス、ラット、ウサギ、ヒツジ、ヤギ、ニワトリ、ウシ、ウマ、モルモット、ハムスターなどが用いられる。ポリクローナル抗体はこれらの動物から血液を採取して血清を分離し、硫酸沈澱および陰イオン交換クロマトグラフィーまたはプロテインAまたはGクロマトグラフィーで免疫グロブリンを精製して得られる。

ニワトリの場合、卵より抗体を精製することもできる。モノクローナル抗体は、例えばin vitroで感作した、あるいは上記動物の免疫細胞を培養可能な親細胞と融合させて作製したハイブリドーマ (hybridoma) 細胞の培養上清から、もしくは同ハイブリドーマ細胞を動物腹腔内接種して得られる腹水から精製して調製することができる。親細胞としては、例えばX63、NS-1、P3U1、X63.653、SP2/0、Y3、SK O-007、GM1500、UC729-6、HM2.0、NP4-1細胞などがあげられる。また、in vitroで感作した、あるいは上記動物の免疫細胞にEBウイルスなどの適当なウイルスを感染させ、得られる不死化抗体産生細胞を培養することにより調製することもできる。

これら細胞工学的手法とは別に、in vitroで感作した、あるいは上記動物の免疫細胞から抗体遺伝子をPCR(polymerase chain reaction)反応によって増幅して取り出し、大腸菌等の微生物に導入して抗体を産生させたり、抗体を融合タンパク質としてファージ表面に発現させるなど、遺伝子工学的手法により得ることもできる。

本発明の抗体を用いて、生体におけるポリペプチドを定量する事により、ポリペプチドの各種疾患の病態との係わりを解明する事が出来、さらに同抗体は疾患の診断ひいては治療、且つポリペプチドの効率的なアフィニティー精製に資する事が出来る。

本発明により、造血幹細胞または造血前駆細胞に作用し、その生存あるいは増殖を支持する活性を有する、あるいは、ストローマ細胞に作用し造血幹細胞支持活性を付与する活性を有するポリペプチド、およびそれをコードするDNAが提供される。本発明のポリペプチドを用いることにより、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖、生存を効率的に維持することが可能になる。

発明を実施するための最良の形態

以下、実施例により本発明をさらに具体的に説明する。

実施例1 造血幹細胞支持細胞に特異的に発現する遺伝子の断片の取得

(I) マウスAGM由来ストローマ細胞株の取得

(1) マウス胎児のAGM領域の分離

C3H/HeNSLcマウス（日本エスエルシー株式会社より購入）の雌雄をSPF (specific pathogen-free)の環境のもとで飼育した。1ないし2匹の雌を1匹の雄と一晚、同じケージにいれ、翌朝、膣栓の存在が確認された雌マウスを新しいケージに移して飼育した。膣栓の確認された日を懐胎0.5日とした。懐胎10.5日目のマウスを頸椎脱臼により死に至らしめた後、胎児を摘出した。AGMの分離は、Godin等(Godin, I., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 92:773-777, 1995)、Medvinsky等(Medvinsky, A.L., Blood, 87:557-565, 1996)の方法に準拠して実施した。胎児が浸る程度にPBS(-)（リン酸緩衝生理食塩水）（日水製薬製）を入れた培養皿に胎児を入れ、実体顕微鏡下で、AGM領域を他の領域を含まないように慎重に切除し、新たな24ウェルの培養皿（Nunc社）に移した。

(2) AGM由来細胞株の樹立

24ウェルの培養皿（Nunc社）に移したAGM領域に、10% FCS (Hyclone社)を含むMEM培地（Sigma社）を一滴加え、一晚、培養器中で培養した。培養は、10% FCS (Hyclone社)を含むMEM培地（Sigma社）、37°C、5% CO₂、湿度100%の条件下で行った。一晚の培養で、AGM領域の細胞が培養皿に付着したところで、さらに、2

mlの10% FCSを含むMEM培地を添加した。その後、培養を継続することにより、AGM領域組織片の周辺には次第にストローマ細胞が出現した。さらに1週間培養を継続した後、接着細胞をトリプシン処理(0.05% トリプシン, 0.53mM EDTA(Gibco BRL社)を含むPBS中、37°C、3～5分)によって剥がした後、培地で2回洗浄し、6ウェル培養皿(Nunc社)に播種した。翌日、培養皿に付着しなかった細胞を培地とともに除去し、新たに新鮮な培地を添加した。6ウェル培養皿に移してから2週間後に、内在する造血細胞を除去するため900 Radの γ 線を照射した。この培養系から限界希釈法で直接細胞のクローニングを行ったが、細胞の増殖は認められず、クローニングすることはできなかった。そこで、一つのウェルに播種する細胞数を増やし、少ない細胞からの増殖に耐えられるように細胞を馴化してから限界希釈法によるクローニングを実施することとした。

すなわち、上記と同様にして、AGMを摘出して培養を行い、 γ 線を照射してから2週間になる培養系をトリプシン処理(0.05% トリプシン, 0.53mM EDTAを含むPBS中、37°C、3～5分)して細胞を懸濁し、50～100細胞/ウェルとなるように24ウェル培養皿に播種した。3週間培養を継続した後、限界希釈法により、0.3細胞/ウェルとなるように96ウェル培養皿(Nunc社)に細胞を播種し、一個の細胞のみが播種されているウェルから増殖してきた細胞を拡大培養した。その結果、線維芽細胞様の細胞と、敷石状の細胞が得られ、クローニングに成功した。

ヒト臍帯血由来CD34陽性細胞分画を、線維芽細胞様の細胞と二週間共培養し、培養系中のコロニー形成細胞の有無について検討したところ、線維芽細胞様の細胞との共培養系中にはコロニー形成細胞が認められなかった。そこで、敷石状の形態を示す細胞7クローンについて同様の検討を行い、ヒト造血幹細胞増殖支持活性を有するクローンが3つ得られた。これらをAGM-s1、AGM-s2およびAGM-s3と命名した。

(II) マウス骨髄からの造血幹細胞の調製

C57BL/6-Ly5.1 pep (8～10週齢、雄) (筑波大学 中内啓光教授より供与) の大腿骨内の骨髄を採取し、PBSに懸濁した。定法に従い(高津聖志、免疫研究の基礎技術、羊土社1995)、マウス骨髄単核球細胞画分を比重遠心法により濃縮した後、染色バッファー(5% FCS, 0.05% NaN_3 を含むPBS)に懸濁し、以下の方法で造血幹細胞

胞分画を取得した (Osawa, M. et al., Science 273:242-245, 1996)。

FITC結合CD34抗体、フィコエリスリン結合Sca-1抗体、アロフィコシアニンc-Kit (全てPharmlingen社製)、および、分化マーカー(Lin)として以下の6種類のビオチン化した分化抗原特異的な抗体、CD45R, CD4, CD8, Gr-1, Ter119, CD11c (全てPharmlingen社製) を、骨髓単核球細胞懸濁液に添加し、氷中で20分間放置し反応させた。染色バッファで2回洗浄した後に、セルソーター (FACS Vantage, Becton Dickinson社) により、CD34陰性、Sca-1陽性、c-Kit陽性、Lin陰性細胞を分取した。

(III) マウスストローマ細胞株のサブクローニング、および各種細胞株の造血幹細胞支持活性の評価

(1) マウスストローマ細胞株のサブクローニング

1) AGM-s3サブクロンの分離

非働化10%FCS (ウシ胎児血清、Hyclone社) を含むMEM α 培地 (GIBCO BRL社) で継代培養をしているAGM由来ストローマ細胞株AGM-s3を5% FCS含有PBS (PBS-FCS) に懸濁し、セルソーター (FACS Vantage; Becton Dickinson) を用いて1細胞/ウェルで96ウェル培養皿 (Falcon社) にクローンソーティングを行なった。96ウェル中、細胞が増殖してきたウェルについて拡大培養し、13種のAGM-s3のサブクローンを得た。これらのAGM-s3サブクローンについて造血細胞の支持能を検討した。

2) ヒト臍帯血CD34陽性幹細胞の分離

ヒト臍帯血は、キリンビール医薬探索研究所倫理委員会の基準に準拠し、正常分娩時に採取した。臍帯血は凝固しないようにヘパリンを添加したシリンジを用いて採取した。ヘパリン処理臍帯血をLymphoprep(NYCOMED PHARMA) に重層し、比重遠心 (400G、室温、30分間) により単核細胞を分離した。単核細胞に混入した赤血球は、塩化アンモニウム緩衝液 (0.83% NH_4Cl -Tris HCl 20mM, pH6.8) で室温2分間処理して溶血させた。PBS-FCSで単核細胞を洗浄後、10mgのヒトIgGを添加し、氷冷下、10分間放置した後、さらに細胞をPBS-FCSで洗浄し、ヒト分化血球に特異的な抗原に対するビオチン化抗体すなわち、CD2、CD11c(ATCCハイブリドーマを入手し精製)、CD19(Pharmlingen社)、CD15、CD41(Leinco Technologies, Inc.社)、Glycop

horin A (コスモバイオ社) に対する抗体を添加し氷冷下、20分間放置した。細胞をPBS-FCSで洗浄後、5% FCS、10mM EDTA、0.05% NaN₃を含むPBS (PBS-FCS-EDTA-NaN₃) 1mlに懸濁し、ストレプトアビジン結合磁性体ビーズ (BioMag, PerSeptive Diagnostics社) を添加して氷冷下、40分間放置した。分化抗原を発現した分化血球をマグネチックセパレーター (DynaI MPC-1, Dynal社) を用いて除去し、残りの分化血球抗原陰性分画にFITC標識抗CD34抗体 (Immunotech S.A., Marseilles, France) を添加し、氷冷下、20分間のインキュベーションの後、セルソーターによりCD34陽性分画を回収した。この細胞集団をヒト臍帯血由来造血幹細胞集団とした。

3) ヒト造血幹細胞とAGM-s3サブクローンとの共培養

13種のAGM-s3のサブクローンおよびマウス骨髄由来ストローマ細胞株MS-5のそれぞれを、 1×10^4 /ウェルで24ウェル培養皿 (Falcon社) に播種し、10% FCSを含むMEM α 培地1mlで培養し、細胞がウェルの底一面を覆うまで増殖させた。上記ストローマ細胞上にCD34陽性ヒト臍帯血由来造血幹細胞を500個/ウェルで重層し、1mlの10% FCSを含むMEM α 培地にて共培養した。共培養開始1週間後に同様の培地1mlをさらに添加した。共培養開始2週間目にトリプシン処理 (0.05% トリプシン、0.5mM EDTAを含むPBS (GIBCO BRL社) で37°C、2~5分間放置) によりストローマ細胞とヒト血液細胞を同時に培養皿より剥がし、造血幹細胞支持活性をコロニーアッセイにより評価した。

4) コロニーアッセイによる造血幹細胞および造血前駆細胞の増殖状況の評価

上記共培養系にて増殖した細胞は、適宜希釈して1mlメチルセルロース培養系に付し、解析を行なった。メチルセルロース培養系は、MethoCult H4230 (Stem Cell Technologies Inc.社) に10ng/ml ヒトSCF、ヒトIL-3、ヒトIL-6、ヒトG-CSF、ヒトTPO、2 IU/ml EPOを添加し、6ウェル培養皿 (Falcon社) にて実施した。上記で用いた各種造血因子は、いずれもリコンビナント体であり、純粋なものである。2週間の培養の後、出現してきたコロニーを顕微鏡下で観察し、CFU-GM (granulocyte-macrophage colony-forming unit)、BFU-E (erythroid burst forming unit)、および、CFU-E mix (erythrocyte mixed colony-forming unit) の数を計測した。

図1にCD34陽性造血幹細胞とAGM-s3サブクローンA9、A7またはD11との2週間共培

養の結果を示す。13種のAGM-s3サブクローンのうちA9とD11の2クローンが、CFU-GM、BFU-E、および、CFU-E mixのすべての分化系列の細胞の増殖を支持した。特に赤血球系の前駆細胞であるBFU-E、および、CFU-E mix を維持することは通常困難であるが、A9またはD11細胞との共培養系ではその増殖が認められた。この結果は、A9またはD11細胞との共培養により造血幹細胞あるいは造血前駆細胞が増殖あるいは維持されることにより、常に赤血球系の前駆細胞が出現してきていることを示している。一方、A7は、その細胞の形態がA9に似ているが、CFU-GM、BFU-E、および、CFU-E mixを支持しなかった。

5) A9とマウス胎仔由来ストローマ細胞株OP9のヒト造血幹細胞支持活性の比較

上記手法を用いて、さらに、AGM-s3サブクローンA9、A7とマウス胎仔由来ストローマ細胞株OP9 (RCB1124、理化学研究所 細胞開発銀行) のCD34陽性ヒト臍帯血由来造血幹細胞に対する幹細胞支持能の比較をCFU-GM、BFU-E、CFU-E、および、CFU-E mixを指標に、上記の評価系を用いて実施した。図2に2週間共培養の結果を示す。A7細胞培養系では、CFU-GM、BFU-E、および、CFU-Eの有意な減少が確認され、CFU-E mixは完全に消失していた。一方、OP9細胞ではA9には劣るが、CFU-E mixを含む各種血球前駆細胞が維持されており、造血幹細胞支持能を有することが明らかとなった。

(2) 各種細胞株の造血幹細胞支持活性の評価

前記の各ストローマ細胞株 (AGM-s3-A9、AGM-s3-A7、AGM-s3-G1)、3T3Swiss (ATCC)、OP9およびNIH3T3 (ATCC) を 5×10^4 個ずつ24ウエルの培養皿 (Falcon社) に播種し、非働化10% FCS (ウシ胎児血清、Hyclone社製) を含むMEM α 培地 (GIBCO BRL社製) にて1日培養し、細胞が培養皿の底一面を覆うまで増殖させた。その後、1mlの新たな培地に交換し、上記(1)で得たマウス造血幹細胞 (C57BL/6-Ly5.1由来) 30個をこれらの細胞上に重層し、培養を開始した。

培養7日目に、細胞をトリプシン処理 (0.05% トリプシン、0.5mM EDTAを含むPBS (GIBCO BRL社) で37°C、2~5分間放置) し、培養皿の全ての細胞を剥がし回収した。回収した各全細胞を、それぞれ20万個の全骨髓細胞 (C57BL/6-Ly5.2マウス由来、チャールスリバー社) と共に、8.5GyのX線を照射したC57BL/6-Ly5.2 (チ

ャールスリバー社、8週齢、雄）マウスに尾静注より移植した。移植後、経時的に眼窩より末梢血を回収し、FACSによりC57BL/6-Ly5.1 pepマウス由来の細胞数の割合を算定した。定法に従い（高津聖志、免疫研究の基礎技術、羊土社1995）、末梢血の解析を行った。末梢血50 μ lに蒸留水を350 μ l加え、30秒間放置し、赤血球を溶血させた後に、2倍濃度のPBSを加え遠心し、白血球を回収した。細胞を染色バッファー（5% FCS、0.05% NaN₃を含むPBS）で1回洗浄した後に、抗CD16抗体、FITC結合抗Ly5.1 (CD45.1) 抗体、フィコエリスリン結合抗Gr-1抗体およびCD11c抗体、ならびに、アロフィコシアニン結合CD90 (Thy1)抗体およびCD45R (B220)抗体（全て、Pharmingen社より購入）を添加し、水中で30分放置して反応させた後に、染色バッファーで洗浄後、FACS解析を行った。

移植後経時的に、末梢血中の、Gr-1またはCD11c陽性細胞（骨髄球系）のLy5.1陽性の割合と、CD90またはCD45R陽性細胞（リンパ球系）のLy5.1陽性の割合を、それぞれ算定することにより、造血幹細胞培養期間中の再構築を行うことが可能な細胞数の増減を推定した。

結果を図3に示す。AGM-s3-A9細胞、OP9細胞、または、3T3Swiss細胞と共培養した細胞を移植した場合は、移植後ドナー細胞の高いキメリズムが維持され、これらのストローマ細胞が高い造血幹細胞支持活性を有することが観察された。一方、AGM-s3-A7細胞、AGM-s3-G1細胞、または、NIH3T3細胞の場合、移植した細胞由来の高いキメリズムが認められず、これらのストローマ細胞株の造血幹細胞・前駆細胞の支持活性は低い。

（IV）造血幹細胞支持細胞に特異的に発現する遺伝子の配列の同定

AGM-s3-A9細胞、AGM-s3-A7細胞、および、OP9細胞のそれぞれをISOGEN（日本国ニッポンジーン）20 mlに溶解し、添付文書に従ってトータルRNAを調製した。トータルRNA 1mgを用いて、mRNA purification kit（米国Amersham Pharmacia社）のプロトコルに従い、メッセンジャーRNAを調製した。本メッセンジャーRNAを用いて定法によりcDNAを合成し、pSPORT1（米国GIBCO Lifetech社）を用いてcDNAライブラリー（以下、それぞれAGM-s3-A9 cDNA、AGM-s3-A7 cDNAおよびOP9 cDNAともいう）を構築した。本ライブラリーを用いて、SBH法（米国Hyseq社）により、AGM-s3-A7細胞

胞と比べた場合にAGM-s3-A9細胞あるいはOP9細胞に特異的に高発現するcDNA断片を有するクローンを取得した。取得したクローンについて、ABI377 DNAシーケンサー（米国Perkin Elmer社）を用いて塩基配列を決定した。

この結果、それぞれ配列番号1、配列番号2、配列番号3、配列番号4、配列番号5、配列番号6、および、配列番号7に示す塩基配列またはその一部を有する遺伝子の発現が、AGM-s3-A9あるいはOP9細胞でAGM-s3-A7細胞より高いことが判明した。これらの遺伝子を、それぞれ、SCR-2、SCR-3、SCR-4、SCR-5、SCR-6、SCR-7、および、SCR-8と命名した。

実施例2 SCR-2のクローニングおよび活性評価

配列番号1の塩基配列に関し、GenBankデータベースをBLASTを用いて検索することで、SCR-2は、登録番号AF185613のマウス遺伝子Mus musculus glypican-1 (Gpc-1)と同一の遺伝子であることが判明した。SCR-2のORF(Open Reading Frame)の塩基配列および同塩基配列より推定されるアミノ酸配列を配列番号8に示す。アミノ酸配列のみを配列番号9に示す。

Gpc-1のヒト塩基配列は、GenBankデータベースに登録番号AX020122で登録されている。AX020122のORFの塩基配列および同塩基配列より推定されるアミノ酸配列を配列番号10に示す。アミノ酸配列のみを配列番号11に示す。

SCR-2の造血幹細胞または造血前駆細胞支持活性評価を以下のように行った。

(1) マウスSCR-2発現レトロウイルスベクターの構築

SCR-2のORFの塩基配列に基づいてレトロウイルスベクタークローニング用に、下記の塩基配列を有するSCR-2FsalおよびSCR-2Recoプライマーを作製し、OP9 cDNAをテンプレートに用いてPCRを実施した。

SCR-2Fsal

CCGGTCGACCACCatggaactccggacccgaggtgg (配列番号30)

SCR-2Reco

CCGAATTCTtaccgccacctgggcctggctgc (配列番号31)

増幅断片を制限酵素EcoRIとSalIで消化し、電気泳動の後、JETSORB（独国Genome

d社)を用いてDNA断片の精製を行った。精製DNA断片を、同様にEcoRIおよびXhoIで消化したpMX-IRES-GFPベクター(東大医科研、北村俊雄教授より分与)と連結した。pMX-IRES-GFPベクターは、レトロウイルスベクターpMXにIRES (Internal Ribosome Entry Site)、および、GFP (Green Fluorescence Protein) をコードする配列を挿入したプラスミドである。IRES (Internal Ribosome Entry Site) は、mRNAの途中からリボソームがアクセスできる。したがい、発現ベクターを構築するときの一つの転写単位の中にIRESを挟んで上流、下流に遺伝子を繋げることで、一つのmRNAから二つの遺伝子を発現させることが可能となる。上記プラスミドでは、上流にSCR-2のcDNAが挿入され、下流に蛍光蛋白質であるGFP (Green Fluorescence Protein) をコードする配列が挿入されており、GFPの発現状況をFACSで検出することによって、SCR-2の発現をモニターすることができる。

得られた組換えベクターを大腸菌DH5 α に遺伝子導入し、100 μ g/mlアンピシリンを含むLB寒天培地に蒔き、単一コロニーを形成させた。単離したコロニーを100 μ g/mlアンピシリンを含むLB培地100mlで培養後、QIAGENtip100 (米国QIAGEN社)を用いてプラスミドの精製を行った。挿入遺伝子の配列を常法にしたがって決定し、SCR-2のORFの塩基配列と一致していることを確認した。

(2) SCR-2強発現ストローマ細胞の作製

コラーゲンタイプIコート60mm dish (旭テクノグラス社) に 2×10^6 個のBOSC23細胞を蒔き、37°C、5% CO₂、湿度100%の条件下、10% FCSを含むDMEM培地で培養を開始し、12~18時間後に前記培地をOPTI MEM培地 (GIBCO BRL社) 2mlで置換した。

前記のpMX-IRES-GFPにSCR-2を挿入したプラスミド約3 μ gを、OPTI MEM培地100 μ lで希釈したLIPOFECTAMINE Reagent (GIBCO BRL社) 18 μ lに加え、30分室温に静置した。調製したDNA溶液を上記で用意したBOSC23細胞培養液中に添加した。約5時間後に2mlの20% FCSを含むDMEM培地 (GIBCO BRL社) を添加した。

約24時間後に、培地を10%FCS入りDMEM 4mlに置換し、さらに約48時間後に培養液を回収した。培養液を0.45 μ mフィルターでろ過後、1200gで16時間遠心し、培養上清を捨てることによってウイルス沈殿を取得した。

AGM-s3-A7あるいはAGM-s3-A9細胞を24wellプレート (FALCON社) に 1×10^4 個ずつ、

10% FCSを含むMEM α 培地 (GIBCO BRL社) 1ml中で培養した。12~18時間後に、ウイルス沈殿を1mlの10% FCSを含むMEM α 培地に懸濁し、ストローマ細胞培養液とウイルス懸濁液を置換した。さらにPOLYBRENE (シグマ、SEQUA-BRENE) を10 μ g/mlになるように添加し、培養皿を700gで45分遠心後、37°C、5% CO₂、湿度100%の条件下で培養した。48時間後、培地を10% FCSを含むMEM α 培地1mlに置換し、さらに24時間後、6wellプレート (FALCON社) に継代し10% FCSを含むMEM α 培地3mlで培養した。継代48時間後、セルソーター (FACSVantage、Becton Dickinson社) にてストローマ細胞のGFP発現を確認し、80%以上の細胞がSCR-2を発現していることを間接的に確認した。

また、pMX-IRES-GFPにSCR-2を挿入したプラスミドの代わりにpMX-IRES-GFPベクターを用いて同様の操作を行い、コントロールベクターを導入したストローマ細胞を調製した。

(3) ヒト造血幹細胞とSCR-2強発現ストローマ細胞との共培養、ならびに、コロニーアッセイによる造血幹細胞および造血前駆細胞の増殖状況の評価

実施例1の(III) (1) 3)~4)に記載のようにして、レトロウイルスによりSCR-2を強発現させたAGM-s3-A9細胞もしくはAGM-s3-A7細胞、コントロールベクターを導入したAGM-s3-A9細胞もしくはAGM-s3-A7細胞、または、AGM-s3-A9細胞もしくはAGM-s3-A7細胞を、CD34陽性ヒト臍帯血由来造血幹細胞と共培養し、コロニーアッセイにより造血幹細胞および造血前駆細胞の増殖状況を評価した。

図4に、CD34陽性造血幹細胞と、SCR-2を強発現するAGM-s3-A9 (A9/SCR-2)、コントロールベクターを導入したAGM-s3-A9 (A9/pMX1G) またはAGM-s3-A9 (A9) とを2週間共培養したときの結果を示す。また、図5にSCR-2を強発現するAGM-s3-A7、コントロールベクターを導入したAGM-s3-A7またはAGM-s3-A7とを2週間共培養したときの結果を示す。この結果、SCR-2強発現AGM-s3-A9またはSCR-2強発現AGM-s3-A7で共培養により、BFU-EおよびCFU-Cの増加が認められた。従い、SCR-2を強発現することにより、AGM-s3-A9あるいはAGM-s3-A7の造血幹細胞あるいは造血前駆細胞の支持活性が増強されることが示された。この結果から、SCR-2の遺伝子産物は、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖、生存を支持する活性を有するあるいはストロ

ーマ細胞に作用し造血細胞支持活性を増強または付与する活性を有することが明らかとなった。

実施例 3 SCR-3のクローニングおよび活性評価

配列番号 2 の塩基配列に関し、GenBankデータベースをBLASTを用いて検索すること、SCR-3は、登録番号U15209、Mus musculus chemokine MMRP2 mRNA、U19482、Mus musculus C10-like chemokine mRNA、および、U49513、Mouse macrophage inflammatory protein-1gamma mRNAのマウス遺伝子と同一の遺伝子であることが判明した。SCR-3のORFの塩基配列および同塩基配列より推定されるアミノ酸配列を配列番号 1 2 に示す。アミノ酸配列のみを配列番号 1 3 に示す。

SCR-3の造血幹細胞または造血前駆細胞支持活性評価を以下のように行った。

(1) マウスSCR-3発現レトロウイルスベクターの構築

SCR-3のORFの塩基配列に基づいてレトロウイルスベクタークローニング用に、下記の塩基配列を有するSCR-3F_{xho}IおよびSCR-3Reco配列のプライマーを作製し、AGM-s3-A9 cDNAをテンプレートに用いてPCRを実施した。増幅断片を、実施例 2 の(1)と同様の方法によりレトロウイルスベクターpMX-IRES-GFPに挿入した。

SCR-3F_{xho}I

cgcCTCGAGccaccATGAAGCCTTTTCATACTGCC (配列番号 3 2)

SCR-3Reco

tccGAATTCTtattgtttgttaggtccgtgg (配列番号 3 3)

(2) SCR-3強発現ストローマ細胞株の作製

上記のレトロウイルスベクターを用いて、実施例 2 の(2)と同様にしてSCR-3強発現AGM-s3-A7細胞を作製した。

(3) SCR-3強発現ストローマ細胞の造血幹細胞支持活性の評価

AGM-s3-A7細胞、レトロウイルスによりSCR-3を強発現させたAGM-s3-A7細胞、ならびに、コントロールベクターを導入したAGM-s3-A7細胞を、それぞれ、 1×10^5 個ずつ24ウェルの培養皿に播種することの他は、実施例 1 の(III)(2)と同様にし

て造血幹細胞支持活性の評価を行った。

結果を図 6 に示す。SCR-3 を強発現する AGM-s3-A7 細胞と共培養した造血幹細胞 (A7/SCR-3) は移植後、それぞれの親株またはコントロールベクターを導入した細胞と共培養した造血幹細胞 (A7 または A7/pMX1G) に比べて、レシピエント個体で高いキメリズムを示した。この高いキメリズムは 2 ヶ月後の骨髓球系およびリンパ球系細胞で確認され、放射線照射マウスの体内で造血系を再構築できる造血幹細胞および造血前駆細胞が、共培養期間中に、SCR-3 を導入されていない細胞との共培養と比べて優位に維持・増幅されていたことが判明した。この結果から、SCR-3 の強発現により、ストローマ細胞の造血幹細胞または造血前駆細胞の生存、増殖支持能が増強されることが示された。したがって、SCR-3 の発現産物は造血幹細胞または造血前駆細胞に作用し、その生存あるいは増殖を支持する活性を有する、あるいは、ストローマ細胞に作用し造血幹細胞支持活性を増強または付与する活性を有することが明らかになった。

実施例 4 SCR-4 のクローニングおよび活性評価

配列番号 3 の塩基配列に関し、GenBank データベースを BLAST を用いて検索したところ、SCR-4 は、登録番号 AF131820 Homo sapiens clone 25077 mRNA と高い相同性が確認され、SCR-4 は AF131820 のマウスオースログと判明した。また、この配列は W00066784 に記載されている。

AF131820 の ORF の塩基配列および同塩基配列より推定されるアミノ酸配列を配列番号 16 に示す。アミノ酸配列のみを配列番号 17 に示す。

その塩基配列およびその塩基配列において ORF と考えられる塩基配列から推定されるアミノ酸配列を配列番号 14 に示す。アミノ酸配列のみを配列番号 15 に示す。

SCR-4 の造血幹細胞または造血前駆細胞支持活性評価を以下のように行った。

(1) ヒト SCR-4 発現レトロウイルスベクターの構築

胎児肝臓由来メッセンジャー RNA (米国 CLONTECH 社) 3 μ g より、オリゴ dT プライマー、逆転写酵素 (Superscript II、GIBCO-BRL 社) を用いて cDNA を合成した。本 cDNA を鋳型として、ヒト SCR-4 の ORF 領域を下記の塩基配列を有するプライマー HSCR

-4F_{xho}およびHSCR-4RecoRVでPCR増幅し、XhoIで消化した後に、実施例2（1）と同様の方法によりレトロウィルスベクターpMX-IRES-GFPに挿入した。その際、pMX-IRES-GFPは制限酵素EcoRIで消化の後、KOD DNA合成酵素（東洋紡日本国）を用いて平滑化した後に制限酵素XhoIで消化した。

HSCR-4F_{xho}I

CCGCTCGAGCCACCGatgttggtgcaaggtggtgt （配列番号34）

HSCR-4RecoRV

CCGGATATCTcattttctttctgttgctcca （配列番号35）

（2）ヒトSCR-4強発現ストローマ細胞株の作製

上記のレトロウィルスベクターを用いて、実施例2の（2）と同様にしてヒトSCR-4強発現AGM-s3-A9細胞を作製した。

（3）ヒト造血幹細胞とヒトSCR-4強発現ストローマ細胞との共培養、ならびに、コロニーアッセイによる造血幹細胞および造血前駆細胞の増殖状況の評価

実施例1の（III）（1）3）～4）に記載のようにして、レトロウィルスによりSCR-4を強発現させたAGM-s3-A9細胞、コントロールベクターを導入したAGM-s3-A9細胞、または、AGM-s3-A9細胞細胞を、CD34陽性ヒト臍帯血由来造血幹細胞と共培養し、コロニーアッセイにより造血幹細胞および造血前駆細胞の増殖状況を評価した。

図7に、CD34陽性造血幹細胞と、ヒトSCR-4を強発現させたAGM-s3-A9、コントロールベクターを導入したAGM-s3-A9、または、AGM-s3-A9とを2週間共培養したときの結果を示す。この結果、ヒトSCR-4強発現AGM-s3-A9との共培養により、BFU-E、ならびにCFU-Cの増加が認められた。従い、ヒトSCR-4を強発現することにより、AGM-s3-A9の造血幹細胞あるいは造血前駆細胞の支持活性が増強されることが示された。この結果から、ヒトSCR-4は、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖、生存を支持する活性を有するあるいはストローマ細胞に作用し造血細胞支持活性を付与する活性を有することが明らかとなった。

実施例 5 SCR-5のクローニングおよび活性評価

SBH解析で得られた配列番号4の塩基配列には、ORFの存在が推測された。ORFの塩基配列および同塩基配列より推定されるアミノ酸配列を配列番号18に示す。アミノ酸配列のみを配列番号19に示す。

配列番号18の塩基配列に関し、GenBankデータベースをBLASTを用いて検索したところ、登録番号AF325503 Homo sapiens esophageal cancer related gene 4 protein (ECRG4) mRNAと高い相同性が確認され、SCR-5はAF325503のマウスオーソログと判明した。

AF325503のORFの塩基配列および同塩基配列より推定されるアミノ酸配列を配列番号20に示す。アミノ酸配列のみを配列番号21に示す。

SCR-5の造血幹細胞または造血前駆細胞支持活性評価を以下のように行った。

(1) マウスSCR-5発現レトロウイルスベクターの構築

SCR-5のORFの配列に基づいてレトロウイルスベクタークローニング用に、下記の塩基配列を有するSCR-5F_{XhoI}およびSCR-5R_{blunt}プライマーを作製し、配列番号23の塩基配列を有するDNAをテンプレートに用いてPCRを実施し、増幅断片を制限酵素XhoIで消化後、実施例2の(1)と同様の方法によりレトロウイルスベクターpMX-IRES-GFPに挿入した。その際、pMX-IRES-GFPは制限酵素EcoRIで消化の後、KOD DNA合成酵素(東洋紡日本国)を用いて平滑化した後に制限酵素XhoIで消化した。

SCR-5F_{XhoI}

cggCTCGAGccaccatgagcaccctcgtctgcgcg (配列番号36)

SCR-5R_{blunt}

tccGTTAAcTtaatagtcacatcatagttca (配列番号37)

(2) SCR-5強発現ストローマ細胞株の作製

上記のレトロウイルスベクターを用いて、実施例2の(2)と同様にしてSCR-5強発現AGM-s3-A7細胞を作製した。

(3) SCR-5強発現ストローマ細胞の造血幹細胞支持活性の評価

実施例3の(3)と同様にして造血幹細胞支持活性の評価を行った。

結果を図8に示す。SCR-5を強発現するAGM-s3-A7細胞と共培養した造血幹細胞(A7/SCR-5)は移植後、それぞれの親株あるいはコントロールベクターのみを発現させた細胞と共培養した造血幹細胞(A7もしくはA7/pMX16)に比べて、レシピエント個体で高いキメリズムを示した。この高いキメリズムは2ヶ月後の骨髓球系およびリンパ球系細胞で確認され、放射線照射マウスの体内で造血系を再構築できる造血幹細胞および造血前駆細胞が、共培養期間中にSCR-5を導入されていない細胞より優位に維持・増幅されていたことが判明した。この結果から、SCR-5の強発現により、ストローマ細胞の造血幹細胞あるいは造血前駆細胞の生存、増殖支持能が増強されることが示された。したがい、SCR-5の遺伝子産物は造血幹細胞または造血前駆細胞に作用し、その生存あるいは増殖を支持する活性を有する、あるいは、ストローマ細胞に作用し造血幹細胞支持活性を増強または付与する活性を有することが明らかになった。

実施例6 SCR-6のクローニングおよび活性評価

配列番号5の塩基配列をもとにプローブを作製し、AGM-s3-A9 cDNAをハイブリダイゼーションによりスクリーニングすることで、マウスSCR-6のORFを含む遺伝子を取得した。

AGM-S3-A9細胞 1.4×10^8 個をISOGEN(日本国ニッポンジーン)20mlに溶解し、添付文書に従ってトータルRNAを調製した。トータルRNA 1mgを用いて、mRNA purification kit(米国Amersham Pharmacia社)のプロトコルに従い、メッセンジャーRNAを調製した。調製したメッセンジャーRNA 2mgより、SMART cDNAライブラリー作製キット(米国CLONTECH)を用いて、添付文書に従ってcDNAライブラリーを15画分に分けて作製した。本ライブラリーは、独立なクローンを合計で約40万種類含んでいた。各画分について以下の条件にてPCRを実施し、SCR-6 cDNAを含む画分を同定した。

マウスSCR-6部分遺伝子断片の配列に基づいて以下のプライマーを合成し、AGM-S3-A9 cDNAライブラリー各画分を鋳型として、94℃、30秒、55℃、30秒、

72℃、1分からなる工程を1サイクルとして35サイクルのPCRを実施した。

SCR-6F

AGCTCATTACTGTATATTTA (配列番号 22 : 1983-2002) (配列番号 38)

SCR-6R

GCTATATTTTCATAAGTCATC (配列番号 22 : 2342-2361) (配列番号 39)

PCR産物を2%アガロースゲルにて電気泳動し、予想されるサイズのPCR産物が得られた画分を同定した。陽性画分のうち2画分について、15cmのシャーレに50,000ブランクずつ各2枚蒔き、37℃で10時間保温した後、Biodyne (米国Pall社) ナイロンフィルターに各1枚ずつブランクを写しとった。転写したナイロンフィルターに対し添付文書に従ってDNAの固定処理を行い、³²P標識したDNAプローブにてスクリーニングを実施した。

プローブは、以下のようにして調製した。SCR-6FとSCR-6Rを用いて、マウスSCR-6部分遺伝子断片を含むプラスミドを鋳型として、94℃、30秒、55℃、30秒、72℃、1分からなる工程を1サイクルとして35サイクルのPCRを実施した。PCR産物を2%アガロースゲルにて電気泳動し、増幅断片をJETSORBを用いて精製した。得られたPCR断片25ngを鋳型として、Megaprime labeling kit (米国Amersham Pharmacia社) を用いて、³²P標識したDNAプローブを調製した。

ハイブリダイゼーション及び洗浄は、ExpressHybSolution (米国CLONTECH社) を用いて、添付文書に従って実施し、X線フィルム (日本国フジフィルム) に一日間露光し、フジフィルム自動現像機にて現像し、結果を解析した。その結果、強く露光された部分に相当する位置のブランクをシャーレから掻き取り、10cmシャーレに200個程度のブランクが出るように再度蒔き直した。上記方法にて再度スクリーニングを実施し、単一のブランクを単離した。得られたクローンについて、SMART cDNAライブラリー作製キットの添付文書に従って大腸菌BM25.8株に感染させ、BM25.8株をin vivo LB寒天培地上で培養しコロニーを形成させた。単一コロニーでの切り出しを実施し、感染大腸菌を、50μg/mlのアンピシリンを50μg/mlのアンピシリンを含むLB培地3mlに植菌し、30℃で一夜培養したのち、RPM Kit (米国BI0101) にてプラスミドを抽出し、約10mgのプラスミドを取得した。

挿入断片の両端を、入TriplEx5' LD-Insert Screening Amplimer (CTCGGGAAGCGCG CCATTGTGTTGGT (配列番号 4 0) : 米国CLONTECH) を用いて、ABI377 DNAシーケンサーにより配列決定したところ、配列番号 5 の 1 番目以降の塩基配列を含むcDNAを含むことが判明した。さらにABI377 DNAシーケンサーを用いて全長の塩基配列を決定した。その塩基配列およびその塩基配列においてORFと考えられる塩基配列から推定されるアミノ酸配列を配列番号 2 2 に示す。アミノ酸配列のみを配列番号 2 3 に示す。

SCR-6の造血幹細胞または造血前駆細胞支持活性評価を以下のように行った。

(1) マウスSCR-6発現レトロウイルスベクターの構築

SCR-6のORFの塩基配列に基づいてレトロウイルスベクタークローニング用に、下記の塩基配列を有するSCR-6F_xhoIおよびSCR-6Recoプライマーを作製し、配列番号 2 2 の塩基配列を有するDNAをテンプレートに用いてPCRを実施し、増幅断片を実施例 2 の (1) と同様の方法によりレトロウイルスベクターpMX-IRES-GFPに挿入した。

SCR-6F_xhoI

ccgctcgagccaccATGCGTTTTTGCCTCTTCTC (配列番号 4 1)

SCR-6Reco

cgggaattcTTATTGGTTCACTCTGTCTG (配列番号 4 2)

(2) SCR-6高発現ストローマ細胞株の作製

上記のレトロウイルスベクターを用いて、実施例 2 の (2) と同様にしてSCR-6 強発現AGM-s3-A9細胞を作製した。

(3) ヒト造血幹細胞とSCR-6強発現ストローマ細胞との共培養、ならびに、コロニーアッセイによる造血幹細胞および造血前駆細胞の増殖状況の評価

実施例 1 の (III) (1) 3) ~ 4) に記載のようにして、レトロウイルスによりSCR-6を強発現させたAGM-s3-A9細胞、コントロールベクターを導入したAGM-s3-A9細胞、または、AGM-s3-A9細胞を、CD34陽性ヒト臍帯血由来造血幹細胞と共培養し、

コロニーアッセイにより造血幹細胞および造血前駆細胞の増殖状況を評価した。

図9に、CD34陽性造血幹細胞と、SCR-6を強発現させたAGM-s3-A9 (A9/SCR-6)、コントロールベクターを導入したAGM-s3-A9 (A9/pMXIG) またはAGM-s3-A9 (A9) とを2週間共培養した結果を示す。この結果、SCR-6発現AGM-s3-A9との共培養により、BFU-E、ならびにCFU-Cの増加が認められた。従い、SCR-6を強発現することにより、AGM-s3-A9の造血幹細胞あるいは造血前駆細胞の支持活性が増強されることが示された。この結果から、SCR-6の遺伝子産物は、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖、生存を支持する活性を有するあるいはストローマ細胞に作用し造血細胞支持活性を増強または付与する活性を有することが明らかとなった。

実施例7 SCR-7のクローニングおよび活性評価

SBH解析で得られた配列番号6の塩基配列には、ORFの存在が推測された。ORFの塩基配列および同塩基配列より推定されるアミノ酸配列を配列番号24に示す。アミノ酸配列のみを配列番号25に示す。

SCR-7の造血幹細胞または造血前駆細胞支持活性評価を以下のように行った。

(1) マウスSCR-7発現レトロウイルスベクターの構築

SCR-7のORFの塩基配列に基づいてレトロウイルスベクタークローニング用に、下記の塩基配列を有するSCR-7FsalIおよびSCR-7Recoのプライマーを作製し、配列番号24の塩基配列を有するDNAをテンプレートに用いてPCRを実施し、増幅断片を実施例2の(1)と同様の方法によりレトロウイルスベクターpMX-IRES-GFPに挿入した。

SCR-7FsalI

acgcgtcgaccaccATGCCCCGCTACGAGTTG (配列番号43)

SCR-7Reco

attGAATTCTCACTTCTTCCTCCTCTTTG (配列番号44)

(2) SCR-7高発現ストローマ細胞株の作製

上記のレトロウイルスベクターを用いて、実施例2の(2)と同様にしてSCR-7

強発現AGM-s3-A9細胞を作製した。

(3) ヒト造血幹細胞とSCR-7強発現ストローマ細胞との共培養、ならびに、コロニーアッセイによる造血幹細胞および造血前駆細胞の増殖状況の評価

実施例1の(III)(1)3)~4)に記載のようにして、レトロウイルスによりSCR-7を強発現させたAGM-s3-A9細胞、コントロールベクターを導入したAGM-s3-A9細胞、または、AGM-s3-A9細胞を、CD34陽性ヒト臍帯血由来造血幹細胞と共培養し、コロニーアッセイにより造血幹細胞および造血前駆細胞の増殖状況を評価した。

図10に、CD34陽性造血幹細胞と、SCR-7を強発現するAGM-s3-A9(A9/SCR-7)、コントロールベクターを導入したAGM-s3-A9(A9/pMXIG)、または、AGM-s3-A9(A9)と2週間共培養したときの結果を示す。この結果、SCR-7強発現AGM-s3-A9との共培養により、BFU-E、ならびにCFU-Cの増加が認められた。従い、SCR-7を強発現することにより、AGM-s3-A9の造血幹細胞あるいは造血前駆細胞の支持活性が増強されることが示された。この結果から、SCR-7の遺伝子産物は、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖、生存を支持する活性を有する、あるいはストローマ細胞に作用し造血細胞支持活性を増強または付与する活性を有することが明らかとなった。

実施例8 SCR-8のクローニングおよび活性評価

配列番号7の塩基配列に関し、GenBankデータベースをBLASTを用いて検索することで、SCR-8は、登録番号AB009673 Mus musculus mRNA for ADAM23、と同一の遺伝子であることが判明した。SCR-8のORFの塩基配列および同塩基配列より推定されるアミノ酸配列を配列番号26に示す。アミノ酸配列のみを配列番号27に示す。

また、JP11155574-Aに記載されたHuman MDC3 protein. [Homo sapiens]のコードする配列は、SCR-8と90%以上の相同性を示し、SCR-8のヒトオースログ遺伝子である。このORFの塩基配列および同塩基配列より推定されるアミノ酸配列を配列番号28に示す。アミノ酸配列のみを配列番号29に示す。

SCR-8の造血幹細胞または造血前駆細胞支持活性評価を以下のように行った。

(1) マウスSCR-8発現レトロウイルスベクターの構築

SCR-8のORFの塩基配列に基づいてレトロウイルスベクタークローニング用に下

記の塩基配列を有するSCR-8F_{xho}およびSCR-8Recoプライマーを作製し、AGM-s3-A9 cDNAをテンプレートに用いてPCRを実施し、増幅断片を実施例2の(1)と同様の方法によりレトロウィルスベクターpMX-IRES-GFPに挿入した。

SCR-8F_{xho}I

ccgctegagccaccATGAAGCCGCCCGGCAGCATC (配列番号45)

SCR-8Reco

cggaattcTCAGATGGGGCCTTGCTGAGT (配列番号46)

(2) SCR-8高発現ストローマ細胞株の作製

上記のレトロウィルスベクターを用いて、実施例2の(2)と同様にしてSCR-8高発現AGM-s3-A9細胞を作製した。

(3) ヒト造血幹細胞とSCR-8高発現ストローマ細胞との共培養、ならびに、コロニーアッセイによる造血幹細胞および造血前駆細胞の増殖状況の評価

実施例1の(III)(1)3)~4)に記載のようにして、レトロウィルスによりSCR-8を高発現させたAGM-s3-A9細胞、コントロールベクターを導入したAGM-s3-A9細胞、または、AGM-s3-A9細胞を、CD34陽性ヒト臍帯血由来造血幹細胞と共培養し、コロニーアッセイにより造血幹細胞および造血前駆細胞の増殖状況の評価した。

図11に、CD34陽性造血幹細胞と、SCR-8を高発現するAGM-s3-A9、コントロールベクターを導入したAGM-s3-A9、または、AGM-s3-A9とを2週間共培養したときの結果を示す。この結果、SCR-8高発現AGM-s3-A9との共培養により、BFU-EおよびCFU-Cの増加が認められた。従い、SCR-8を高発現することにより、AGM-s3-A9の造血幹細胞あるいは造血前駆細胞の支持活性が増強されることが示された。この結果から、SCR-8の遺伝子産物は、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖、生存を支持する活性を有する、あるいはストローマ細胞に作用し造血細胞支持活性を増強または付与する活性を有することが明らかとなった。

SEQUENCE LISTING

<110> KIRIN BEER KABUSHIKI KAISHA

<120> 造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持し得るポリペプチドおよびそれをコードするDNA

<130> OP1197

<160> 46

<170> PatentIn version 3.0

<210> 1

<211> 343

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 1

```
cctatggcgg caacgacgtg gacttccagg atgctagtga tgacggcagt ggctccggca    60
gcggtggcgg atgccagat gacacctgtg gccggagggt cagcaagaag agttccagct    120
cccggacccc cttgacccat gccctccccg gcctgtcaga acaggaggga cagaagacct    180
cagctgccac ctgcccagag cccacagct tcttctgtct ctctctgtc accttggtcc    240
ttgcggcagc caggcccagg tggcggtaac tgccccctat ccagacagt aactctgagt    300
gctgcggcag ggtgcatgga ggggtccctc cctccttgag tcg                        343
```

<210> 2

<211> 546

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 2

```
tgtacccag ggacttcctg atcctcttac atgtataaat agcaagaccg ggccaggaac    60
agcaagcagt ctgaaggcca gctgggtctg ccactaaga agatgaagcc ttttcatact    120
gccctctcct tctcattct tacaactgct cttggaatct gggcccagat cacacatgca    180
acagagacaa aagaagtcca gagcagtctg aaggcacagc aagggttga aattgaaatg    240
tttcacatgg gctttcaaga ctcttcagat tgctgcctgt cctataactc acggattcag    300
```

tgttcaagat ttataggtta ttttcccacc agtgggtgggt gtaccaggcc gggcatcatc	360
tttatcagca agaggggggt ccaggtctgt gccaacccca gtgatcggag agttcagaga	420
tgcattgaaa gattggagca aaactcacia ccacggacct acaaacaata acatttgctt	480
gaagagaagg gtgtgaactg ccagctactt tctttggctt tccccagtga ccacctaagt	540
ggctct	546

<210> 3
 <211> 1223
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<400> 3	
gtgaccggga agggagcccc gtggtagagg tgaccggagc tgagcatttc agatctgctt	60
agtaaaccgg tgtatcgccc accatgttgg ctgcaaggct tgttgtctc cggacactac	120
cttcagggt tttccagccc actttcatca ccaaggcctc tccacttggt aagaattcca	180
tcacaaagaa ccaatggctc gtaacaccca gcagggaata tgctaccaag acaagaatta	240
ggactcaccg tgggaaaact ggacaagaac tgaaagaggc agccttggaa ccatcaatgg	300
aaaaaatctt taaaatcgat caaatgggaa ggtggttgt tgctggagga gcagctgttg	360
gtcttgagc gctctgtac tatggcttgg gaatgtctaa tgagattgga gctatcgaaa	420
aggctgtaat ttggcctcag tatgtaaagg atagaattca ttctacttac atgtacttag	480
caggaaggta ttgtttaaca gctttgtctg ccttggcagt agccagaaca cctgctctca	540
tgaacttcat gatgacaggc tcttgggtga caattgggtc gacctttgca gccatgattg	600
gagctggaat gcttgtacac tcaatatcat atgagcagag cccaggccca aagcatctgg	660
cttggatgct gcattctggt gtgatgggtg cagttgtggc tcctctgacg atcttagggg	720
ggcctcttct cctgagagcc gcatgttaca ccgctggat tgtgggaggc ctctctactg	780
tggccatgtg tgcgcctagt gagaagttc tgaacatggg agcacccttg ggagtgggcc	840
tgggtcttgt ctttgcgtct tctctgggt ctatgtttct tccccctacc tctgtggctg	900

gtgccactct gtactcagtg gcaatgtatg gtggattagt tcttttcagc atgttccttc	960
tgtatgatac tcagaaagta atcaaacgtg cagaaataac acccatgtat ggagctcaaa	1020
agtatgatcc catcaattcg atgttgacaa tctacatgga tacattaaat atatttatgc	1080
gagttgcaac tatgctagca actggaagca acagaaagaa atgaagtaac cgcttctgat	1140
gtctccgctc actgatgtct tgcttgttta ataggagcag atagtcatta cagtttgcatt	1200
cagcagaatt cccgcgcggc cgc	1223

<210> 4
 <211> 839
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<400> 4	
gctgtgcctg gcatcagctc tgccctctcc cctttggcca cgcggccctt ctccagcatt	60
tgcagcagac ccgcagggca gtgtgcctcg gtggcattga actgaagctt ggctctcggc	120
ctggcctgct ggctagtgc ccaccctgtg ggtcccggcc agagcaagga tactggagct	180
ttcgccctgcc tcaactgagcc tgggtctcca ctccagtcatt cctccagct actttgcagc	240
actctgtcgc catgagcacc tcgtctgcgc ggctgcagct cctggccctt gccgggctgg	300
ctctgctcct tctgctgtgc ctgggtccag atggcataag tggaaacaaa ctcaagaaga	360
tgctccagaa acgagaagga cctgtcccgt caaagactaa ttagctgtga gccgagaaca	420
cagcaaagga attcctaggt ggcctgaagc gtgccaaacg acagctgtgg gaccgtacgc	480
ggcctgaggt acagcagtg taccagcagct tctctacat gggctttgat gaggctaaat	540
ttgaagatga tgtcaactat tggctaaaca gaaatcgaaa cggccatgac tactatggtg	600
actactacca gcgtcattat gatgaagatg cggccattgg tccccacagc cgggaaagct	660
tcaggcatgg agccagtgtg aactatgatg actattaagc ttcttgaggt gccacagag	720
cttgtgcctg ctccagtagg ccttctctac ctataccacg tgaccatcag gctaaaggaa	780
agaatataag tgctttttgc atttcagca tgtgcttaac gatatgtctc acttaaaaa	839

<210> 5
 <211> 1420
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<400> 5
 cctgtgccta ttttgatgga tggcaatgct aagcaagcaa gcactgttca cttgtgactt 60
 tcattttctca cactgtgcac tgtcaaagac aaatgtgcat ggaaaaatgt ttagtgtcac 120
 ctcatggcgt tctcagcatc agtgaccttc aaacggctcct acaatgagac tgtgttctag 180
 ctaggggtat gctgtggaaa ttctgtctac atttcatctt agtgctaaca tgtacagatt 240
 ctgctgcgct acattcaaag ctcttactg tataatttatg ctttctctgt gtaacaagtt 300
 atacctgata agatgtcact ttgtttctag tgattcttaa ccatggctctg gtacatggct 360
 attctagttt tggaaattaa caagtgtttt gttgcctctt gtttctttt gttcctatca 420
 tttttggcgg gggttgggtg ggcttgattc taaccgtaag tataggataa gctagttttg 480
 tatatagagt caaatgactg atgtcagagg atcagtgtctg atagaacttc cccagttcat 540
 gtcacgatac acacagagag aaagcagcat gaggcatctt gccatcagaa gccaaatttc 600
 ttttgagtcc caaaattgat gacttatgaa atatatgtga aaacaagatt tgggtgtagt 660
 tacttgtatt tattatacaa tttccaatta ctttttttt caaactcaaa ataaccctatg 720
 actttgagtg ataggtcact tggcaatgtt cttgaattac tggggaagct gttgtcacta 780
 agataatgag agagaaaata gaatggcttc gcccaagtga gagccacatc ttacatttct 840
 ctgttgaatc ggaatcaact atattagaac agaagcctga tagaagcttt ctagttaaca 900
 cacacaaggc catggtttca aaaacatctt tgtccctta ggtcagtttg tccttagatt 960
 atgaattggc aggttctaatt tgcattatct ccctggctga tccaggaaaa agttagaaca 1020
 aaataagttg catagttttg aggaaacatc caaagcaagg cgaagccttt ccttgccttg 1080
 cattggcaaa actacctctt tagcatttat gttgattcag aaacatcttg ctgatatgtg 1140
 tagatgtttt aagcttcatt gtgaaaatat tgatgcaaga taagccatat atgaatgttg 1200
 tattcaactt tagggcttga aattaatcct aaagtgttca cctctctcca tgtctattta 1260

cactctgttc ctatttacta agagggtagg ggtctcctta atatcatact tcattgttaa 1320
 taagtcaatg cttgttatgt ttcttggctg ttgtttttgt gcattaaaaa ctcaaaattg 1380
 gaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1420

<210> 6
 <211> 763
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<400> 6
 cccgccctcg cgaccccggc tctcctggac tcggcgccgc caacctgggc gatgccccgc 60
 tacgagttgg ctttgattct gaaagccatg cggcggccag agaccgctgc tgctttgaaa 120
 cgtacaatag aatccctgat ggaccgagga gccatagtga ggaacttgga aagcctgggt 180
 gagcgtgcgc tcccctacag gatctcgagt cacagccagc agcacagccg aggaggggtat 240
 ttcttgggtg atttttatgc tccgacaagt gctgtggaga acatactgga acacttggcg 300
 cgagacattg acgtgggttag accaaatatt gtgaaacacc ctctgaccca ggaagtaaaa 360
 gagtgtgacg gcatagtccc agtcccactt gaagaaaaac tgtattcaac aaagaggagg 420
 aagaagtgag aagattcacc agattctggc cttatattta atcctaaggg cactatgggt 480
 gctgctaggt tgttgtctag gatacttttag cccatgacca ttttctgca ggaggtagaa 540
 actgctggcc gagacctgcc ctgatgtctc tgctgagatt tcatccact tgtgggggtt 600
 gtcgggagtg ggggtgttca cagtaccact gtagcgtttc caagagcaaa atgtttgtca 660
 ttcacacttg gttgtcttgc aagcctatat ggaacactgg gagcagagta ataaacatga 720
 ctttatcaac actggaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaa 763

<210> 7
 <211> 1300
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<400> 7
 ggtatgcagt ctttcgcttg aatttgctgt ttgtttatat agtaataaca gcgctatcta 60

taaggcttac tggccttatt cctggttcca taagacacag gctgtacccc tttactgaat	120
ggcatgggct cagcttggag gaaagtcaga ggaaattcag ataacttggg atctcttcct	180
gtcgttgcaa tgtttcgggg tccacttcac tatgagatac caagcagctg ccaacctcac	240
catactcatt tcgttacaat ttctgaggca ccgtggtgac ttgatccgac atacgaccac	300
gtcagttaca aaccagatct ttatggttaa cttttgaaca tttcacaaac aacattgtaa	360
atgtgcgatg ttatgtttta aatcagacca cagtgggtccc caaatattat gtacatatga	420
caaatgtcag tgtaactttt tgttacctg acagtttcat aggtaaacaa acctacgctc	480
caatgttaaa ttatgcttgt gtatgtaaaa tacacaagca ttgggctatg tgtgtacgga	540
catgagggta gtgcaatcgt actgtacgaa atgggtcaga atcattttca gtggtgttag	600
gttatgtagt ttcagactcc atgctgcatt ttctcttgca catgccatcc atttgcttat	660
tttggagtgt gagtattcct tcttattaat ttgaattcaa agcacaagcc tcccattggt	720
caacattacc caacaagagt gtccagtgat gaccgagtta tctcacctgc tatactttta	780
ctgcaataat taatgacacc tggatgagga ggcgtgcgct gacttcattg ttcacccggg	840
atagtgcatt agcccactga attagagctg cttctaccag caaaagtga cagtacacat	900
aggtgcatgt ttgaaacatg aatcacatag agctatggag ttttgccaag tgatgtgttt	960
tctttttctt ttttcttttt ttttcttttt cttctttttt ttctttttct tcttcttctt	1020
cttttttttt ttttttacta tgcaaagatg ggaaatgcac aaacttccaa gacatgtctg	1080
aagaacttta caatacttga attttttctt taatcatccc atcacattta tggcattgat	1140
gcttccattg tatttttctt ttgtcccttc aacttcaatg gtttgtaatt tcaatgcaca	1200
acctaacctt tgtttgcagt aacttccaat cctattggct gcctggaacg gagattctgt	1260
catcctacac gcattcttta gttgactgtg cataaaagtt	1300

<210> 8

<211> 1674

<212> DNA

<213> Mus musculus

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1671)

<400> 8

atg gaa ctc cgg acc cga ggc tgg tgg ctg ctg tgc gcg gcc gcc gcg 48
Met Glu Leu Arg Thr Arg Gly Trp Trp Leu Leu Cys Ala Ala Ala Ala
1 5 10 15

ctg gtc gtc tgc gcc cgc ggg gac ccc gcc agc aag agc cgg agc tgc 96
Leu Val Val Cys Ala Arg Gly Asp Pro Ala Ser Lys Ser Arg Ser Cys
20 25 30

agc gaa gtc cgc cag atc tac ggg gct aag ggc ttt agc ctg agc gat 144
Ser Glu Val Arg Gln Ile Tyr Gly Ala Lys Gly Phe Ser Leu Ser Asp
35 40 45

gtg ccc cag gca gag atc tcg ggt gag cac ctg cgg atc tgc ccc cag 192
Val Pro Gln Ala Glu Ile Ser Gly Glu His Leu Arg Ile Cys Pro Gln
50 55 60

ggc tac act tgc tgt acc agt gag atg gag gag aat ttg gcc aac cac 240
Gly Tyr Thr Cys Cys Thr Ser Glu Met Glu Glu Asn Leu Ala Asn His
65 70 75 80

agc cga atg gag ctg gag agc gca ctc cat gac agc agc cgc gcc ctg 288
Ser Arg Met Glu Leu Glu Ser Ala Leu His Asp Ser Ser Arg Ala Leu
85 90 95

cag gcc aca ctg gcc acc cag ctg cat ggc atc gat gac cac ttc cag 336
Gln Ala Thr Leu Ala Thr Gln Leu His Gly Ile Asp Asp His Phe Gln
100 105 110

cgc ctg ctg aat gac tcg gag cgc aca ctg cag gag gct ttc cct ggg 384
Arg Leu Leu Asn Asp Ser Glu Arg Thr Leu Gln Glu Ala Phe Pro Gly
115 120 125

gcc ttt ggg gac ctg tat acg cag aac act cgt gcc ttc cgg gac cta 432
Ala Phe Gly Asp Leu Tyr Thr Gln Asn Thr Arg Ala Phe Arg Asp Leu
130 135 140

tat gtt gag ctg cgc ctc tac tac cgt ggg gcc aac ctg cac ctt gag 480
Tyr Val Glu Leu Arg Leu Tyr Tyr Arg Gly Ala Asn Leu His Leu Glu
145 150 155 160

gag acg ctg gcc gag ttc tgg gca cgg ctg ctg gag cgc ctc ttc aag 528
Glu Thr Leu Ala Glu Phe Trp Ala Arg Leu Leu Glu Arg Leu Phe Lys
165 170 175

cag ctg cac ccc cag ctg ctg cct gat gac tac ctg gac tgc ctg ggc Gln Leu His Pro Gln Leu Leu Pro Asp Asp Tyr Leu Asp Cys Leu Gly 180 185 190	576
aag cag gcg gag gca ctg cgg ccg ttt gga gat gcc cct cga gaa ctg Lys Gln Ala Glu Ala Leu Arg Pro Phe Gly Asp Ala Pro Arg Glu Leu 195 200 205	624
cgc ctg cgg gcc acc cgt gcc ttt gtg gct gca cgt tcc ttt gtg cag Arg Leu Arg Ala Thr Arg Ala Phe Val Ala Ala Arg Ser Phe Val Gln 210 215 220	672
ggc ctg ggt gtg gcc agt gat gta gtc cgg aag gtg gcc cag gta cct Gly Leu Gly Val Ala Ser Asp Val Val Arg Lys Val Ala Gln Val Pro 225 230 235 240	720
ctg gcc cca gaa tgt tct cgg gcc atc atg aag ttg gtc tac tgt gct Leu Ala Pro Glu Cys Ser Arg Ala Ile Met Lys Leu Val Tyr Cys Ala 245 250 255	768
cat tgc cgg gga gtc ccg ggc gcc cgg ccc tgc ccc gac tat tgc cga His Cys Arg Gly Val Pro Gly Ala Arg Pro Cys Pro Asp Tyr Cys Arg 260 265 270	816
aat gtg ctc aaa ggc tgc ctt gcc aac cag gcc gac ctg gat gcc gag Asn Val Leu Lys Gly Cys Leu Ala Asn Gln Ala Asp Leu Asp Ala Glu 275 280 285	864
tgg agg aac ctc ctg gac tcc atg gtg ctc atc act gac aag ttc tgg Trp Arg Asn Leu Leu Asp Ser Met Val Leu Ile Thr Asp Lys Phe Trp 290 295 300	912
ggc ccg tcg ggt gcg gag agt gtc att ggc ggt gtg cac gtg tgg ctg Gly Pro Ser Gly Ala Glu Ser Val Ile Gly Gly Val His Val Trp Leu 305 310 315 320	960
gcg gag gcc atc aac gcc ctc cag gac aac aag gac aca ctc aca gct Ala Glu Ala Ile Asn Ala Leu Gln Asp Asn Lys Asp Thr Leu Thr Ala 325 330 335	1008
aag gtc atc cag gcc tgt gga aac ccc aag gtc aat ccc cac ggc tct Lys Val Ile Gln Ala Cys Gly Asn Pro Lys Val Asn Pro His Gly Ser 340 345 350	1056
ggg ccc gag gag aag cgt cgc cgt ggc aaa ttg gca ctg cag gag aag Gly Pro Glu Glu Lys Arg Arg Arg Gly Lys Leu Ala Leu Gln Glu Lys 355 360 365	1104

ccc tcc aca ggt act ctg gaa aaa ctg gtc tct gag gcc aag gcc cag Pro Ser Thr Gly Thr Leu Glu Lys Leu Val Ser Glu Ala Lys Ala Gln 370 375 380	1152
ctc cga gac att cag gac ttc tgg atc agc ctc cca ggg aca ctg tgc Leu Arg Asp Ile Gln Asp Phe Trp Ile Ser Leu Pro Gly Thr Leu Cys 385 390 395 400	1200
agt gag aag atg gcc atg agt cct gcc agt gat gac cgc tgc tgg aat Ser Glu Lys Met Ala Met Ser Pro Ala Ser Asp Asp Arg Cys Trp Asn 405 410 415	1248
gga att tcc aag ggc cgg tac cta cca gag gtg atg ggt gac ggg ctg Gly Ile Ser Lys Gly Arg Tyr Leu Pro Glu Val Met Gly Asp Gly Leu 420 425 430	1296
gcc aac cag atc aac aac cct gag gtg gaa gtg gac atc acc aag cca Ala Asn Gln Ile Asn Asn Pro Glu Val Glu Val Asp Ile Thr Lys Pro 435 440 445	1344
gac atg acc atc cgc cag cag att atg cag ctc aag atc atg acc aac Asp Met Thr Ile Arg Gln Gln Ile Met Gln Leu Lys Ile Met Thr Asn 450 455 460	1392
cgt tta cgt ggc gcc tat ggc ggc aac gac gtg gac ttc cag gat gct Arg Leu Arg Gly Ala Tyr Gly Gly Asn Asp Val Asp Phe Gln Asp Ala 465 470 475 480	1440
agt gat gac ggc agt ggc tcc ggc agc ggt ggc gga tgc cca gat gac Ser Asp Asp Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Gly Gly Cys Pro Asp Asp 485 490 495	1488
acc tgt ggc cgg agg gtc agc aag aag agt tcc agc tcc cgg acc ccc Thr Cys Gly Arg Arg Val Ser Lys Lys Ser Ser Ser Ser Arg Thr Pro 500 505 510	1536
ttg acc cat gcc ctc ccc ggc ctg tca gaa cag gag gga cag aag acc Leu Thr His Ala Leu Pro Gly Leu Ser Glu Gln Glu Gly Gln Lys Thr 515 520 525	1584
tca gct gcc acc tgc cca gag ccc cac agc ttc ttc ctg ctc ttc ctc Ser Ala Ala Thr Cys Pro Glu Pro His Ser Phe Phe Leu Leu Phe Leu 530 535 540	1632
gtc acc ttg gtc ctt gcg gca gcc agg ccc agg tgg cgg taa Val Thr Leu Val Leu Ala Ala Ala Arg Pro Arg Trp Arg 545 550 555	1674

<210> 9
 <211> 557
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 9
 Met Glu Leu Arg Thr Arg Gly Trp Trp Leu Leu Cys Ala Ala Ala Ala
 1 5 10 15

Leu Val Val Cys Ala Arg Gly Asp Pro Ala Ser Lys Ser Arg Ser Cys
 20 25 30

Ser Glu Val Arg Gln Ile Tyr Gly Ala Lys Gly Phe Ser Leu Ser Asp
 35 40 45

Val Pro Gln Ala Glu Ile Ser Gly Glu His Leu Arg Ile Cys Pro Gln
 50 55 60

Gly Tyr Thr Cys Cys Thr Ser Glu Met Glu Glu Asn Leu Ala Asn His
 65 70 75 80

Ser Arg Met Glu Leu Glu Ser Ala Leu His Asp Ser Ser Arg Ala Leu
 85 90 95

Gln Ala Thr Leu Ala Thr Gln Leu His Gly Ile Asp Asp His Phe Gln
 100 105 110

Arg Leu Leu Asn Asp Ser Glu Arg Thr Leu Gln Glu Ala Phe Pro Gly
 115 120 125

Ala Phe Gly Asp Leu Tyr Thr Gln Asn Thr Arg Ala Phe Arg Asp Leu
 130 135 140

Tyr Val Glu Leu Arg Leu Tyr Tyr Arg Gly Ala Asn Leu His Leu Glu
 145 150 155 160

Glu Thr Leu Ala Glu Phe Trp Ala Arg Leu Leu Glu Arg Leu Phe Lys
165 170 175

Gln Leu His Pro Gln Leu Leu Pro Asp Asp Tyr Leu Asp Cys Leu Gly
180 185 190

Lys Gln Ala Glu Ala Leu Arg Pro Phe Gly Asp Ala Pro Arg Glu Leu
195 200 205

Arg Leu Arg Ala Thr Arg Ala Phe Val Ala Ala Arg Ser Phe Val Gln
210 215 220

Gly Leu Gly Val Ala Ser Asp Val Val Arg Lys Val Ala Gln Val Pro
225 230 235 240

Leu Ala Pro Glu Cys Ser Arg Ala Ile Met Lys Leu Val Tyr Cys Ala
245 250 255

His Cys Arg Gly Val Pro Gly Ala Arg Pro Cys Pro Asp Tyr Cys Arg
260 265 270

Asn Val Leu Lys Gly Cys Leu Ala Asn Gln Ala Asp Leu Asp Ala Glu
275 280 285

Trp Arg Asn Leu Leu Asp Ser Met Val Leu Ile Thr Asp Lys Phe Trp
290 295 300

Gly Pro Ser Gly Ala Glu Ser Val Ile Gly Gly Val His Val Trp Leu
305 310 315 320

Ala Glu Ala Ile Asn Ala Leu Gln Asp Asn Lys Asp Thr Leu Thr Ala
325 330 335

Lys Val Ile Gln Ala Cys Gly Asn Pro Lys Val Asn Pro His Gly Ser
340 345 350

Gly Pro Glu Glu Lys Arg Arg Arg Gly Lys Leu Ala Leu Gln Glu Lys
 355 360 365

Pro Ser Thr Gly Thr Leu Glu Lys Leu Val Ser Glu Ala Lys Ala Gln
 370 375 380

Leu Arg Asp Ile Gln Asp Phe Trp Ile Ser Leu Pro Gly Thr Leu Cys
 385 390 395 400

Ser Glu Lys Met Ala Met Ser Pro Ala Ser Asp Asp Arg Cys Trp Asn
 405 410 415

Gly Ile Ser Lys Gly Arg Tyr Leu Pro Glu Val Met Gly Asp Gly Leu
 420 425 430

Ala Asn Gln Ile Asn Asn Pro Glu Val Glu Val Asp Ile Thr Lys Pro
 435 440 445

Asp Met Thr Ile Arg Gln Gln Ile Met Gln Leu Lys Ile Met Thr Asn
 450 455 460

Arg Leu Arg Gly Ala Tyr Gly Gly Asn Asp Val Asp Phe Gln Asp Ala
 465 470 475 480

Ser Asp Asp Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Gly Gly Cys Pro Asp Asp
 485 490 495

Thr Cys Gly Arg Arg Val Ser Lys Lys Ser Ser Ser Ser Arg Thr Pro
 500 505 510

Leu Thr His Ala Leu Pro Gly Leu Ser Glu Gln Glu Gly Gln Lys Thr
 515 520 525

Ser Ala Ala Thr Cys Pro Glu Pro His Ser Phe Phe Leu Leu Phe Leu
 530 535 540

Val Thr Leu Val Leu Ala Ala Ala Arg Pro Arg Trp Arg
 545 550 555

<210> 10
 <211> 1677
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(1674)

<400> 10
 atg gag ctc cgg gcc cga ggc tgg tgg ctg cta tgt gcg gcc gca gcg 48
 Met Glu Leu Arg Ala Arg Gly Trp Trp Leu Leu Cys Ala Ala Ala Ala
 1 5 10 15
 ctg gtc gcc tgc gcc cgc ggg gac ccg gcc agc aag agc cgg agc tgc 96
 Leu Val Ala Cys Ala Arg Gly Asp Pro Ala Ser Lys Ser Arg Ser Cys
 20 25 30
 ggc gag gtc cgc cag atc tac gga gcc aag ggc ttc agc ctg agc gac 144
 Gly Glu Val Arg Gln Ile Tyr Gly Ala Lys Gly Phe Ser Leu Ser Asp
 35 40 45
 gtg ccc cag gcg gag atc tcg ggt gag cac ctg cgg atc tgt ccc cag 192
 Val Pro Gln Ala Glu Ile Ser Gly Glu His Leu Arg Ile Cys Pro Gln
 50 55 60
 ggc tac acc tgc tgc acc agc gag atg gag gag aac ctg gcc aac cgc 240
 Gly Tyr Thr Cys Cys Thr Ser Glu Met Glu Glu Asn Leu Ala Asn Arg
 65 70 75 80
 agc cat gcc gag ctg gag acc gcg ctc cgg gac agc agc cgc gtc ctg 288
 Ser His Ala Glu Leu Glu Thr Ala Leu Arg Asp Ser Ser Arg Val Leu
 85 90 95
 cag gcc atg ctt gcc acc cag ctg cgc agc ttc gat gac cac ttc cag 336
 Gln Ala Met Leu Ala Thr Gln Leu Arg Ser Phe Asp Asp His Phe Gln
 100 105 110
 cac ctg ctg aac gac tcg gag cgg acg ctg cag gcc acc ttc ccc ggc 384
 His Leu Leu Asn Asp Ser Glu Arg Thr Leu Gln Ala Thr Phe Pro Gly
 115 120 125
 gcc ttc gga gag ctg tac acg cag aac gcg agg gcc ttc cgg gac ctg 432
 Ala Phe Gly Glu Leu Tyr Thr Gln Asn Ala Arg Ala Phe Arg Asp Leu

130	135	140	
tac tca gag ctg cgc ctg tac tac cgc ggt gcc aac ctg cac ctg gag			480
Tyr Ser Glu Leu Arg Leu Tyr Tyr Arg Gly Ala Asn Leu His Leu Glu			
145	150	155	160
gag acg ctg gcc gag ttc tgg gcc cgc ctg ctc gag cgc ctc ttc aag			528
Glu Thr Leu Ala Glu Phe Trp Ala Arg Leu Leu Glu Arg Leu Phe Lys			
165	170	175	
cag ctg cac ccc cag ctg ctg ctg cct gat gac tac ctg gac tgc ctg			576
Gln Leu His Pro Gln Leu Leu Leu Pro Asp Asp Tyr Leu Asp Cys Leu			
180	185	190	
ggc aag cag gcc gag gcg ctg cgg ccc ttc ggg gag gcc ccg aga gag			624
Gly Lys Gln Ala Glu Ala Leu Arg Pro Phe Gly Glu Ala Pro Arg Glu			
195	200	205	
ctg cgc ctg cgg gcc acc cgt gcc ttc gtg gct gct cgc tcc ttt gtg			672
Leu Arg Leu Arg Ala Thr Arg Ala Phe Val Ala Ala Arg Ser Phe Val			
210	215	220	
cag ggc ctg ggc gtg gcc agc gac gtg gtc cgg aaa gtg gct cag gtc			720
Gln Gly Leu Gly Val Ala Ser Asp Val Val Arg Lys Val Ala Gln Val			
225	230	235	240
ccc ctg ggc ccg gag tgc tgc aga gct gtc atg aag ctg gtc tac tgt			768
Pro Leu Gly Pro Glu Cys Ser Arg Ala Val Met Lys Leu Val Tyr Cys			
245	250	255	
gct cac tgc ctg gga gtc ccc ggc gcc agg ccc tgc cct gac tat tgc			816
Ala His Cys Leu Gly Val Pro Gly Ala Arg Pro Cys Pro Asp Tyr Cys			
260	265	270	
cga aat gtg ctc aag ggc tgc ctt gcc aac cag gcc gac ctg gac gcc			864
Arg Asn Val Leu Lys Gly Cys Leu Ala Asn Gln Ala Asp Leu Asp Ala			
275	280	285	
gag tgg agg aac ctc ctg gac tcc atg gtg ctc atc acc gac aag ttc			912
Glu Trp Arg Asn Leu Leu Asp Ser Met Val Leu Ile Thr Asp Lys Phe			
290	295	300	
tgg ggt aca tgc ggt gtg gag agt gtc atc ggc agc gtg cac acg tgg			960
Trp Gly Thr Ser Gly Val Glu Ser Val Ile Gly Ser Val His Thr Trp			
305	310	315	320
ctg gcg gag gcc atc aac gcc ctc cag gac aac agg gac acg ctc acg			1008
Leu Ala Glu Ala Ile Asn Ala Leu Gln Asp Asn Arg Asp Thr Leu Thr			

325	330	335	
gcc aag gtc atc cag ggc tgc ggg aac ccc aag gtc aac ccc cag ggc Ala Lys Val Ile Gln Gly Cys Gly Asn Pro Lys Val Asn Pro Gln Gly 340 345 350			1056
cct ggg cct gag gag aag cgg cgc cgg ggc aag ctg gcc ccg cgg gag Pro Gly Pro Glu Glu Lys Arg Arg Arg Gly Lys Leu Ala Pro Arg Glu 355 360 365			1104
agg cca cct tca ggc acg ctg gag aag ctg gtc tct gaa gcc aag gcc Arg Pro Pro Ser Gly Thr Leu Glu Lys Leu Val Ser Glu Ala Lys Ala 370 375 380			1152
cag ctc cgc gac gtc cag gac ttc tgg atc agc ctc cca ggg aca ctg Gln Leu Arg Asp Val Gln Asp Phe Trp Ile Ser Leu Pro Gly Thr Leu 385 390 395 400			1200
tgc agt gag aag atg gcc ctg agc act gcc agt gat gac cgc tgc tgg Cys Ser Glu Lys Met Ala Leu Ser Thr Ala Ser Asp Asp Arg Cys Trp 405 410 415			1248
aac ggg atg gcc aga ggc cgg tac ctc ccc gag gtc atg ggt gac ggc Asn Gly Met Ala Arg Gly Arg Tyr Leu Pro Glu Val Met Gly Asp Gly 420 425 430			1296
ctg gcc aac cag atc aac aac ccc gag gtg gag gtg gac atc acc aag Leu Ala Asn Gln Ile Asn Asn Pro Glu Val Glu Val Asp Ile Thr Lys 435 440 445			1344
ccg gac atg acc atc cgg cag cag atc atg cag ctg aag atc atg acc Pro Asp Met Thr Ile Arg Gln Gln Ile Met Gln Leu Lys Ile Met Thr 450 455 460			1392
aac cgg ctg cgc agc gcc tac aac ggc aac gac gtg gac ttc cag gac Asn Arg Leu Arg Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Asp Val Asp Phe Gln Asp 465 470 475 480			1440
gcc agt gac gac ggc agc ggc tcg ggc agc ggt gat ggc tgt ctg gat Ala Ser Asp Asp Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Asp Gly Cys Leu Asp 485 490 495			1488
gac ctc tgc ggc cgg aag gtc agc agg aag agc tcc agc tcc cgg acg Asp Leu Cys Gly Arg Lys Val Ser Arg Lys Ser Ser Ser Arg Thr 500 505 510			1536
ccc ttg acc cat gcc ctc cca ggc ctg tca gag cag gaa gga cag aag Pro Leu Thr His Ala Leu Pro Gly Leu Ser Glu Gln Glu Gly Gln Lys			1584

515	520	525	
acc tgc gct gcc agc tgc ccc cag ccc ccg acc ttc ctc ctg ccc ctc			1632
Thr Ser Ala Ala Ser Cys Pro Gln Pro Pro Thr Phe Leu Leu Pro Leu			
530	535	540	
ctc ctc ttc ctg gcc ctt aca gta gcc agg ccc cgg tgg cgg taa			1677
Leu Leu Phe Leu Ala Leu Thr Val Ala Arg Pro Arg Trp Arg			
545	550	555	
<210>	11		
<211>	558		
<212>	PRT		
<213>	Homo sapiens		
<400>	11		
Met Glu Leu Arg Ala Arg Gly Trp Trp Leu Leu Cys Ala Ala Ala Ala			
1	5	10	15
Leu Val Ala Cys Ala Arg Gly Asp Pro Ala Ser Lys Ser Arg Ser Cys			
	20	25	30
Gly Glu Val Arg Gln Ile Tyr Gly Ala Lys Gly Phe Ser Leu Ser Asp			
	35	40	45
Val Pro Gln Ala Glu Ile Ser Gly Glu His Leu Arg Ile Cys Pro Gln			
	50	55	60
Gly Tyr Thr Cys Cys Thr Ser Glu Met Glu Glu Asn Leu Ala Asn Arg			
65	70	75	80
Ser His Ala Glu Leu Glu Thr Ala Leu Arg Asp Ser Ser Arg Val Leu			
	85	90	95
Gln Ala Met Leu Ala Thr Gln Leu Arg Ser Phe Asp Asp His Phe Gln			
	100	105	110
His Leu Leu Asn Asp Ser Glu Arg Thr Leu Gln Ala Thr Phe Pro Gly			
	115	120	125

Ala Phe Gly Glu Leu Tyr Thr Gln Asn Ala Arg Ala Phe Arg Asp Leu
130 135 140

Tyr Ser Glu Leu Arg Leu Tyr Tyr Arg Gly Ala Asn Leu His Leu Glu
145 150 155 160

Glu Thr Leu Ala Glu Phe Trp Ala Arg Leu Leu Glu Arg Leu Phe Lys
165 170 175

Gln Leu His Pro Gln Leu Leu Leu Pro Asp Asp Tyr Leu Asp Cys Leu
180 185 190

Gly Lys Gln Ala Glu Ala Leu Arg Pro Phe Gly Glu Ala Pro Arg Glu
195 200 205

Leu Arg Leu Arg Ala Thr Arg Ala Phe Val Ala Ala Arg Ser Phe Val
210 215 220

Gln Gly Leu Gly Val Ala Ser Asp Val Val Arg Lys Val Ala Gln Val
225 230 235 240

Pro Leu Gly Pro Glu Cys Ser Arg Ala Val Met Lys Leu Val Tyr Cys
245 250 255

Ala His Cys Leu Gly Val Pro Gly Ala Arg Pro Cys Pro Asp Tyr Cys
260 265 270

Arg Asn Val Leu Lys Gly Cys Leu Ala Asn Gln Ala Asp Leu Asp Ala
275 280 285

Glu Trp Arg Asn Leu Leu Asp Ser Met Val Leu Ile Thr Asp Lys Phe
290 295 300

Trp Gly Thr Ser Gly Val Glu Ser Val Ile Gly Ser Val His Thr Trp
305 310 315 320

Leu Ala Glu Ala Ile Asn Ala Leu Gln Asp Asn Arg Asp Thr Leu Thr
 325 330 335

Ala Lys Val Ile Gln Gly Cys Gly Asn Pro Lys Val Asn Pro Gln Gly
 340 345 350

Pro Gly Pro Glu Glu Lys Arg Arg Arg Gly Lys Leu Ala Pro Arg Glu
 355 360 365

Arg Pro Pro Ser Gly Thr Leu Glu Lys Leu Val Ser Glu Ala Lys Ala
 370 375 380

Gln Leu Arg Asp Val Gln Asp Phe Trp Ile Ser Leu Pro Gly Thr Leu
 385 390 395 400

Cys Ser Glu Lys Met Ala Leu Ser Thr Ala Ser Asp Asp Arg Cys Trp
 405 410 415

Asn Gly Met Ala Arg Gly Arg Tyr Leu Pro Glu Val Met Gly Asp Gly
 420 425 430

Leu Ala Asn Gln Ile Asn Asn Pro Glu Val Glu Val Asp Ile Thr Lys
 435 440 445

Pro Asp Met Thr Ile Arg Gln Gln Ile Met Gln Leu Lys Ile Met Thr
 450 455 460

Asn Arg Leu Arg Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Asp Val Asp Phe Gln Asp
 465 470 475 480

Ala Ser Asp Asp Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Asp Gly Cys Leu Asp
 485 490 495

Asp Leu Cys Gly Arg Lys Val Ser Arg Lys Ser Ser Ser Arg Thr
 500 505 510

Pro Leu Thr His Ala Leu Pro Gly Leu Ser Glu Gln Glu Gly Gln Lys
515 520 525

Thr Ser Ala Ala Ser Cys Pro Gln Pro Pro Thr Phe Leu Leu Pro Leu
530 535 540

Leu Leu Phe Leu Ala Leu Thr Val Ala Arg Pro Arg Trp Arg
545 550 555

<210> 12
<211> 369
<212> DNA
<213> Mus musculus

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(366)

<400> 12
atg aag cct ttt cat act gcc ctc tcc ttc ctc att ctt aca act gct 48
Met Lys Pro Phe His Thr Ala Leu Ser Phe Leu Ile Leu Thr Thr Ala
1 5 10 15
ctt gga atc tgg gcc cag atc aca cat gca aca gag aca aaa gaa gtc 96
Leu Gly Ile Trp Ala Gln Ile Thr His Ala Thr Glu Thr Lys Glu Val
20 25 30
cag agc agt ctg aag gca cag caa ggg ctt gaa att gaa atg ttt cac 144
Gln Ser Ser Leu Lys Ala Gln Gln Gly Leu Glu Ile Glu Met Phe His
35 40 45
atg ggc ttt caa gac tct tca gat tgc tgc ctg tcc tat aac tca cgg 192
Met Gly Phe Gln Asp Ser Ser Asp Cys Cys Leu Ser Tyr Asn Ser Arg
50 55 60
att cag tgt tca aga ttt ata ggt tat ttt ccc acc agt ggt ggg tgt 240
Ile Gln Cys Ser Arg Phe Ile Gly Tyr Phe Pro Thr Ser Gly Gly Cys
65 70 75 80
acc agg ccg ggc atc atc ttt atc agc aag agg ggg ttc cag gtc tgt 288
Thr Arg Pro Gly Ile Ile Phe Ile Ser Lys Arg Gly Phe Gln Val Cys
85 90 95
gcc aac ccc agt gat cgg aga gtt cag aga tgc att gaa aga ttg gag 336

Ala Asn Pro Ser Asp Arg Arg Val Gln Arg Cys Ile Glu Arg Leu Glu
 100 105 110

caa aac tca caa cca cgg acc tac aaa caa taa 369
 Gln Asn Ser Gln Pro Arg Thr Tyr Lys Gln
 115 120

<210> 13
 <211> 122
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 13
 Met Lys Pro Phe His Thr Ala Leu Ser Phe Leu Ile Leu Thr Thr Ala
 1 5 10 15

Leu Gly Ile Trp Ala Gln Ile Thr His Ala Thr Glu Thr Lys Glu Val
 20 25 30

Gln Ser Ser Leu Lys Ala Gln Gln Gly Leu Glu Ile Glu Met Phe His
 35 40 45

Met Gly Phe Gln Asp Ser Ser Asp Cys Cys Leu Ser Tyr Asn Ser Arg
 50 55 60

Ile Gln Cys Ser Arg Phe Ile Gly Tyr Phe Pro Thr Ser Gly Gly Cys
 65 70 75 80

Thr Arg Pro Gly Ile Ile Phe Ile Ser Lys Arg Gly Phe Gln Val Cys
 85 90 95

Ala Asn Pro Ser Asp Arg Arg Val Gln Arg Cys Ile Glu Arg Leu Glu
 100 105 110

Gln Asn Ser Gln Pro Arg Thr Tyr Lys Gln
 115 120

<210> 14
 <211> 1223

<212> DNA

<213> Mus musculus

<220>

<221> CDS

<222> (84)..(1121)

<400> 14

gtgacccgga agggagcccc gtggtagagg tgaccggagc tgagcatttc agatctgctt 60

agtaaaccgg tgtatcgccc acc atg ttg gct gca agg ctt gtg tgt ctc cgg 113

Met Leu Ala Ala Arg Leu Val Cys Leu Arg
1 5 10

aca cta cct tcc agg gtt ttc cag ccc act ttc atc acc aag gcc tct 161

Thr Leu Pro Ser Arg Val Phe Gln Pro Thr Phe Ile Thr Lys Ala Ser
15 20 25

cca ctt gtg aag aat tcc atc aca aag aac caa tgg ctc gta aca ccc 209

Pro Leu Val Lys Asn Ser Ile Thr Lys Asn Gln Trp Leu Val Thr Pro
30 35 40

agc agg gaa tat gct acc aag aca aga att agg act cac cgt ggg aaa 257

Ser Arg Glu Tyr Ala Thr Lys Thr Arg Ile Arg Thr His Arg Gly Lys
45 50 55

act gga caa gaa ctg aaa gag gca gcc ttg gaa cca tca atg gaa aaa 305

Thr Gly Gln Glu Leu Lys Glu Ala Ala Leu Glu Pro Ser Met Glu Lys
60 65 70

atc ttt aaa atc gat caa atg gga agg tgg ttt gtt gct gga gga gca 353

Ile Phe Lys Ile Asp Gln Met Gly Arg Trp Phe Val Ala Gly Gly Ala
75 80 85 90

gct gtt ggt ctt gga gcg ctc tgc tac tat ggc ttg gga atg tct aat 401

Ala Val Gly Leu Gly Ala Leu Cys Tyr Tyr Gly Leu Gly Met Ser Asn
95 100 105

gag att gga gct atc gaa aag gct gta att tgg cct cag tat gta aag 449

Glu Ile Gly Ala Ile Glu Lys Ala Val Ile Trp Pro Gln Tyr Val Lys
110 115 120

gat aga att cat tct act tac atg tac tta gca gga agg tat tgt tta 497

Asp Arg Ile His Ser Thr Tyr Met Tyr Leu Ala Gly Arg Tyr Cys Leu
125 130 135

aca gct ttg tct gcc ttg gca gta gcc aga aca cct gct ctc atg aac 545

Thr Ala Leu Ser Ala Leu Ala Val Ala Arg Thr Pro Ala Leu Met Asn

140	145	150	
ttc atg atg aca ggc tct tgg gtg aca att ggt gcg acc ttt gca gcc			593
Phe Met Met Thr Gly Ser Trp Val Thr Ile Gly Ala Thr Phe Ala Ala			
155	160	165	170
atg att gga gct gga atg ctt gta cac tca ata tca tat gag cag agc			641
Met Ile Gly Ala Gly Met Leu Val His Ser Ile Ser Tyr Glu Gln Ser			
	175	180	185
cca ggc cca aag cat ctg gct tgg atg ctg cat tct ggt gtg atg ggt			689
Pro Gly Pro Lys His Leu Ala Trp Met Leu His Ser Gly Val Met Gly			
	190	195	200
gca gtt gtg gct cct ctg acg atc tta ggg ggg cct ctt ctc ctg aga			737
Ala Val Val Ala Pro Leu Thr Ile Leu Gly Gly Pro Leu Leu Leu Arg			
	205	210	215
gcc gca tgg tac acc gct ggt att gtg gga ggc ctc tct act gtg gcc			785
Ala Ala Trp Tyr Thr Ala Gly Ile Val Gly Gly Leu Ser Thr Val Ala			
	220	225	230
atg tgt gcg cct agt gag aag ttt ctg aac atg gga gca ccc ctg gga			833
Met Cys Ala Pro Ser Glu Lys Phe Leu Asn Met Gly Ala Pro Leu Gly			
	235	240	245
gtg ggc ctg ggt ctt gtc ttt gcg tct tct ctg ggg tct atg ttt ctt			881
Val Gly Leu Gly Leu Val Phe Ala Ser Ser Leu Gly Ser Met Phe Leu			
	255	260	265
ccc cct acc tct gtg gct ggt gcc act ctg tac tca gtg gca atg tat			929
Pro Pro Thr Ser Val Ala Gly Ala Thr Leu Tyr Ser Val Ala Met Tyr			
	270	275	280
ggt gga tta gtt ctt ttc agc atg ttc ctt ctg tat gat act cag aaa			977
Gly Gly Leu Val Leu Phe Ser Met Phe Leu Leu Tyr Asp Thr Gln Lys			
	285	290	295
gta atc aaa cgt gca gaa ata aca ccc atg tat gga gct caa aag tat			1025
Val Ile Lys Arg Ala Glu Ile Thr Pro Met Tyr Gly Ala Gln Lys Tyr			
	300	305	310
gat ccc atc aat tcg atg ttg aca atc tac atg gat aca tta aat ata			1073
Asp Pro Ile Asn Ser Met Leu Thr Ile Tyr Met Asp Thr Leu Asn Ile			
	315	320	325
ttt atg cga gtt gca act atg cta gca act gga agc aac aga aag aaa			1121
Phe Met Arg Val Ala Thr Met Leu Ala Thr Gly Ser Asn Arg Lys Lys			

335 340 345
tgaagtaacc gcttgtgatg tctccgctca ctgatgtctt gcttgttttaa taggagcaga 1181
tagtcattac agtttgcac agcagaattc ccgcgcggcc gc 1223

<210> 15
<211> 346
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 15
Met Leu Ala Ala Arg Leu Val Cys Leu Arg Thr Leu Pro Ser Arg Val
1 5 10 15

Phe Gln Pro Thr Phe Ile Thr Lys Ala Ser Pro Leu Val Lys Asn Ser
20 25 30

Ile Thr Lys Asn Gln Trp Leu Val Thr Pro Ser Arg Glu Tyr Ala Thr
35 40 45

Lys Thr Arg Ile Arg Thr His Arg Gly Lys Thr Gly Gln Glu Leu Lys
50 55 60

Glu Ala Ala Leu Glu Pro Ser Met Glu Lys Ile Phe Lys Ile Asp Gln
65 70 75 80

Met Gly Arg Trp Phe Val Ala Gly Gly Ala Ala Val Gly Leu Gly Ala
85 90 95

Leu Cys Tyr Tyr Gly Leu Gly Met Ser Asn Glu Ile Gly Ala Ile Glu
100 105 110

Lys Ala Val Ile Trp Pro Gln Tyr Val Lys Asp Arg Ile His Ser Thr
115 120 125

Tyr Met Tyr Leu Ala Gly Arg Tyr Cys Leu Thr Ala Leu Ser Ala Leu
130 135 140

Ala Val Ala Arg Thr Pro Ala Leu Met Asn Phe Met Met Thr Gly Ser
145 150 155 160

Trp Val Thr Ile Gly Ala Thr Phe Ala Ala Met Ile Gly Ala Gly Met
165 170 175

Leu Val His Ser Ile Ser Tyr Glu Gln Ser Pro Gly Pro Lys His Leu
180 185 190

Ala Trp Met Leu His Ser Gly Val Met Gly Ala Val Val Ala Pro Leu
195 200 205

Thr Ile Leu Gly Gly Pro Leu Leu Leu Arg Ala Ala Trp Tyr Thr Ala
210 215 220

Gly Ile Val Gly Gly Leu Ser Thr Val Ala Met Cys Ala Pro Ser Glu
225 230 235 240

Lys Phe Leu Asn Met Gly Ala Pro Leu Gly Val Gly Leu Gly Leu Val
245 250 255

Phe Ala Ser Ser Leu Gly Ser Met Phe Leu Pro Pro Thr Ser Val Ala
260 265 270

Gly Ala Thr Leu Tyr Ser Val Ala Met Tyr Gly Gly Leu Val Leu Phe
275 280 285

Ser Met Phe Leu Leu Tyr Asp Thr Gln Lys Val Ile Lys Arg Ala Glu
290 295 300

Ile Thr Pro Met Tyr Gly Ala Gln Lys Tyr Asp Pro Ile Asn Ser Met
305 310 315 320

Leu Thr Ile Tyr Met Asp Thr Leu Asn Ile Phe Met Arg Val Ala Thr
325 330 335

Met Leu Ala Thr Gly Ser Asn Arg Lys Lys
 340 345

<210> 16
 <211> 1038
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(1035)

<400> 16
 atg ttg gct gca agg ctg gtg tgt ctc cgg aca cta cct tct agg gtt 48
 Met Leu Ala Ala Arg Leu Val Cys Leu Arg Thr Leu Pro Ser Arg Val
 1 5 10 15
 ttc cac cca gct ttc acc aag gcc tcc cct gtt gtg aag aat tcc atc 96
 Phe His Pro Ala Phe Thr Lys Ala Ser Pro Val Val Lys Asn Ser Ile
 20 25 30
 acg aag aat caa tgg ctg tta aca cct agc agg gaa tat gcc acc aaa 144
 Thr Lys Asn Gln Trp Leu Leu Thr Pro Ser Arg Glu Tyr Ala Thr Lys
 35 40 45
 aca aga att ggg atc cgg cgt ggg aga act ggc caa gaa ctc aaa gag 192
 Thr Arg Ile Gly Ile Arg Arg Gly Arg Thr Gly Gln Glu Leu Lys Glu
 50 55 60
 gca gca ttg gaa cca tcg atg gaa aaa ata ttt aaa att gat cag atg 240
 Ala Ala Leu Glu Pro Ser Met Glu Lys Ile Phe Lys Ile Asp Gln Met
 65 70 75 80
 gga aga tgg ttt gtt gct gga ggg gct gct gtt ggt ctt gga gca ttg 288
 Gly Arg Trp Phe Val Ala Gly Gly Ala Ala Val Gly Leu Gly Ala Leu
 85 90 95
 tgc tac tat ggc ttg gga ctg tct aat gag att gga gct att gaa aag 336
 Cys Tyr Tyr Gly Leu Gly Leu Ser Asn Glu Ile Gly Ala Ile Glu Lys
 100 105 110
 gct gta att tgg cct cag tat gtc aag gat aga att cat tcc acc tat 384
 Ala Val Ile Trp Pro Gln Tyr Val Lys Asp Arg Ile His Ser Thr Tyr
 115 120 125
 atg tac tta gca ggg agt att ggt tta aca gct ttg tct gcc ata gca 432

Met Tyr Leu Ala Gly Ser Ile Gly Leu Thr Ala Leu Ser Ala Ile Ala	
130 135 140	
atc agc aga acg cct gtt ctc atg aac ttc atg atg aga ggc tct tgg	480
Ile Ser Arg Thr Pro Val Leu Met Asn Phe Met Met Arg Gly Ser Trp	
145 150 155 160	
gtg aca att ggt gtg acc ttt gca gcc atg gtt gga gct gga atg ctg	528
Val Thr Ile Gly Val Thr Phe Ala Ala Met Val Gly Ala Gly Met Leu	
165 170 175	
gta cga tca ata cca tat gac cag agc cca ggc cca aag cat ctt gct	576
Val Arg Ser Ile Pro Tyr Asp Gln Ser Pro Gly Pro Lys His Leu Ala	
180 185 190	
tgg ttg cta cat tct ggt gtg atg ggt gca gtg gtg gct cct ctg aca	624
Trp Leu Leu His Ser Gly Val Met Gly Ala Val Val Ala Pro Leu Thr	
195 200 205	
ata tta ggg ggt cct ctt ctc atc aga gct gca tgg tac aca gct ggc	672
Ile Leu Gly Gly Pro Leu Leu Ile Arg Ala Ala Trp Tyr Thr Ala Gly	
210 215 220	
att gtg gga ggc ctc tcc act gtg gcc atg tgt gcg ccc agt gaa aag	720
Ile Val Gly Gly Leu Ser Thr Val Ala Met Cys Ala Pro Ser Glu Lys	
225 230 235 240	
ttt ctg aac atg ggt gca ccc ctg gga gtg ggc ctg ggt ctc gtc ttt	768
Phe Leu Asn Met Gly Ala Pro Leu Gly Val Gly Leu Gly Leu Val Phe	
245 250 255	
gtg tcc tca ttg gga tct atg ttt ctt cca cct acc acc gtg gct ggt	816
Val Ser Ser Leu Gly Ser Met Phe Leu Pro Pro Thr Thr Val Ala Gly	
260 265 270	
gcc act ctt tac tca gtg gca atg tac ggt gga tta gtt ctt ttc agc	864
Ala Thr Leu Tyr Ser Val Ala Met Tyr Gly Gly Leu Val Leu Phe Ser	
275 280 285	
atg ttc ctt ctg tat gat acc cag aaa gta atc aag cgt gca gaa gta	912
Met Phe Leu Leu Tyr Asp Thr Gln Lys Val Ile Lys Arg Ala Glu Val	
290 295 300	
tca cca atg tat gga gtt caa aaa tat gat ccc att aac tcg atg ctg	960
Ser Pro Met Tyr Gly Val Gln Lys Tyr Asp Pro Ile Asn Ser Met Leu	
305 310 315 320	
agt atc tac atg gat aca tta aat ata ttt atg cga gtt gca act atg	1008

Ser Ile Tyr Met Asp Thr Leu Asn Ile Phe Met Arg Val Ala Thr Met
 325 330 335

ctg gca act gga ggc aac aga aag aaa tga 1038
 Leu Ala Thr Gly Gly Asn Arg Lys Lys
 340 345

<210> 17
 <211> 345
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 17
 Met Leu Ala Ala Arg Leu Val Cys Leu Arg Thr Leu Pro Ser Arg Val
 1 5 10 15

Phe His Pro Ala Phe Thr Lys Ala Ser Pro Val Val Lys Asn Ser Ile
 20 25 30

Thr Lys Asn Gln Trp Leu Leu Thr Pro Ser Arg Glu Tyr Ala Thr Lys
 35 40 45

Thr Arg Ile Gly Ile Arg Arg Gly Arg Thr Gly Gln Glu Leu Lys Glu
 50 55 60

Ala Ala Leu Glu Pro Ser Met Glu Lys Ile Phe Lys Ile Asp Gln Met
 65 70 75 80

Gly Arg Trp Phe Val Ala Gly Gly Ala Ala Val Gly Leu Gly Ala Leu
 85 90 95

Cys Tyr Tyr Gly Leu Gly Leu Ser Asn Glu Ile Gly Ala Ile Glu Lys
 100 105 110

Ala Val Ile Trp Pro Gln Tyr Val Lys Asp Arg Ile His Ser Thr Tyr
 115 120 125

Met Tyr Leu Ala Gly Ser Ile Gly Leu Thr Ala Leu Ser Ala Ile Ala
 130 135 140

Ile Ser Arg Thr Pro Val Leu Met Asn Phe Met Met Arg Gly Ser Trp
 145 150 155 160

Val Thr Ile Gly Val Thr Phe Ala Ala Met Val Gly Ala Gly Met Leu
 165 170 175

Val Arg Ser Ile Pro Tyr Asp Gln Ser Pro Gly Pro Lys His Leu Ala
 180 185 190

Trp Leu Leu His Ser Gly Val Met Gly Ala Val Val Ala Pro Leu Thr
 195 200 205

Ile Leu Gly Gly Pro Leu Leu Ile Arg Ala Ala Trp Tyr Thr Ala Gly
 210 215 220

Ile Val Gly Gly Leu Ser Thr Val Ala Met Cys Ala Pro Ser Glu Lys
 225 230 235 240

Phe Leu Asn Met Gly Ala Pro Leu Gly Val Gly Leu Gly Leu Val Phe
 245 250 255

Val Ser Ser Leu Gly Ser Met Phe Leu Pro Pro Thr Thr Val Ala Gly
 260 265 270

Ala Thr Leu Tyr Ser Val Ala Met Tyr Gly Gly Leu Val Leu Phe Ser
 275 280 285

Met Phe Leu Leu Tyr Asp Thr Gln Lys Val Ile Lys Arg Ala Glu Val
 290 295 300

Ser Pro Met Tyr Gly Val Gln Lys Tyr Asp Pro Ile Asn Ser Met Leu
 305 310 315 320

Ser Ile Tyr Met Asp Thr Leu Asn Ile Phe Met Arg Val Ala Thr Met
 325 330 335

Leu Ala Thr Gly Gly Asn Arg Lys Lys
 340 345

<210> 18
 <211> 447
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(444)

<400> 18
 atg agc acc tcg tct gcg cgg cct gca gtc ctg gcc ctt gcc ggg ctg 48
 Met Ser Thr Ser Ser Ala Arg Pro Ala Val Leu Ala Leu Ala Gly Leu
 1 5 10 15
 gct ctg ctc ctt ctg ctg tgc ctg ggt cca gat ggc ata agt gga aac 96
 Ala Leu Leu Leu Leu Leu Cys Leu Gly Pro Asp Gly Ile Ser Gly Asn
 20 25 30
 aaa ctc aag aag atg ctc cag aaa cga gaa gga cct gtc ccg tca aag 144
 Lys Leu Lys Lys Met Leu Gln Lys Arg Glu Gly Pro Val Pro Ser Lys
 35 40 45
 act aat gta gct gta gcc gag aac aca gca aag gaa ttc cta ggt ggc 192
 Thr Asn Val Ala Val Ala Glu Asn Thr Ala Lys Glu Phe Leu Gly Gly
 50 55 60
 ctg aag cgt gcc aaa cga cag ctg tgg gac cgt acg cgg cct gag gta 240
 Leu Lys Arg Ala Lys Arg Gln Leu Trp Asp Arg Thr Arg Pro Glu Val
 65 70 75 80
 cag cag tgg tac cag cag ttc ctc tac atg ggc ttt gat gag gct aaa 288
 Gln Gln Trp Tyr Gln Gln Phe Leu Tyr Met Gly Phe Asp Glu Ala Lys
 85 90 95
 ttt gaa gat gat gtc aac tat tgg cta aac aga aat cga aac ggc cat 336
 Phe Glu Asp Asp Val Asn Tyr Trp Leu Asn Arg Asn Arg Asn Gly His
 100 105 110
 gac tac tat ggt gac tac tac cag cgt cat tat gat gaa gat gcg gcc 384
 Asp Tyr Tyr Gly Asp Tyr Tyr Gln Arg His Tyr Asp Glu Asp Ala Ala
 115 120 125

att ggt ccc cac agc cgg gaa agc ttc agg cat gga gcc agt gtg aac 432
 Ile Gly Pro His Ser Arg Glu Ser Phe Arg His Gly Ala Ser Val Asn
 130 135 140

tat gat gac tat taa 447
 Tyr Asp Asp Tyr
 145

<210> 19
 <211> 148
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 19
 Met Ser Thr Ser Ser Ala Arg Pro Ala Val Leu Ala Leu Ala Gly Leu
 1 5 10 15

Ala Leu Leu Leu Leu Leu Cys Leu Gly Pro Asp Gly Ile Ser Gly Asn
 20 25 30

Lys Leu Lys Lys Met Leu Gln Lys Arg Glu Gly Pro Val Pro Ser Lys
 35 40 45

Thr Asn Val Ala Val Ala Glu Asn Thr Ala Lys Glu Phe Leu Gly Gly
 50 55 60

Leu Lys Arg Ala Lys Arg Gln Leu Trp Asp Arg Thr Arg Pro Glu Val
 65 70 75 80

Gln Gln Trp Tyr Gln Gln Phe Leu Tyr Met Gly Phe Asp Glu Ala Lys
 85 90 95

Phe Glu Asp Asp Val Asn Tyr Trp Leu Asn Arg Asn Arg Asn Gly His
 100 105 110

Asp Tyr Tyr Gly Asp Tyr Tyr Gln Arg His Tyr Asp Glu Asp Ala Ala
 115 120 125

Ile Gly Pro His Ser Arg Glu Ser Phe Arg His Gly Ala Ser Val Asn

130

135

140

Tyr Asp Asp Tyr
145

<210> 20

<211> 447

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(444)

<400> 20

atg gct gcc tcc ccc gcg cgg cct gct gtc ctg gcc ctg acc ggg ctg 48
Met Ala Ala Ser Pro Ala Arg Pro Ala Val Leu Ala Leu Thr Gly Leu
1 5 10 15

gcg ctg ctc ctg ctc ctg tgc tgg ggc cca ggt ggc ata agt gga aat 96
Ala Leu Leu Leu Leu Leu Cys Trp Gly Pro Gly Gly Ile Ser Gly Asn
20 25 30

aaa ctc aag ctg atg ctt caa aaa cga gaa gca cct gtt cca act aag 144
Lys Leu Lys Leu Met Leu Gln Lys Arg Glu Ala Pro Val Pro Thr Lys
35 40 45

act aaa gtg gcc gtt gat gag aat aaa gcc aaa gaa ttc ctt ggc agc 192
Thr Lys Val Ala Val Asp Glu Asn Lys Ala Lys Glu Phe Leu Gly Ser
50 55 60

ctg aag cgc cag aag cgg cag ctg tgg gac cgg act cgg ccc gag gtg 240
Leu Lys Arg Gln Lys Arg Gln Leu Trp Asp Arg Thr Arg Pro Glu Val
65 70 75 80

cag cag tgg tac cag cag ttt ctc tac atg ggc ttt gac gaa gcg aaa 288
Gln Gln Trp Tyr Gln Gln Phe Leu Tyr Met Gly Phe Asp Glu Ala Lys
85 90 95

ttt gaa gat gac atc acc tat tgg ctt aac aga gat cga aat gga cat 336
Phe Glu Asp Asp Ile Thr Tyr Trp Leu Asn Arg Asp Arg Asn Gly His
100 105 110

gaa tac tat ggc gat tac tac caa cgt cac tat gat gaa gac tct gca 384
Glu Tyr Tyr Gly Asp Tyr Tyr Gln Arg His Tyr Asp Glu Asp Ser Ala
115 120 125

att ggt ccc cgg agc ccc tac ggc ttt agg cat gga gcc agc gtc aac 432
 Ile Gly Pro Arg Ser Pro Tyr Gly Phe Arg His Gly Ala Ser Val Asn
 130 135 140

tac gat gac tac taa 447
 Tyr Asp Asp Tyr
 145

<210> 21
 <211> 148
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 21
 Met Ala Ala Ser Pro Ala Arg Pro Ala Val Leu Ala Leu Thr Gly Leu
 1 5 10 15

Ala Leu Leu Leu Leu Leu Cys Trp Gly Pro Gly Gly Ile Ser Gly Asn
 20 25 30

Lys Leu Lys Leu Met Leu Gln Lys Arg Glu Ala Pro Val Pro Thr Lys
 35 40 45

Thr Lys Val Ala Val Asp Glu Asn Lys Ala Lys Glu Phe Leu Gly Ser
 50 55 60

Leu Lys Arg Gln Lys Arg Gln Leu Trp Asp Arg Thr Arg Pro Glu Val
 65 70 75 80

Gln Gln Trp Tyr Gln Gln Phe Leu Tyr Met Gly Phe Asp Glu Ala Lys
 85 90 95

Phe Glu Asp Asp Ile Thr Tyr Trp Leu Asn Arg Asp Arg Asn Gly His
 100 105 110

Glu Tyr Tyr Gly Asp Tyr Tyr Gln Arg His Tyr Asp Glu Asp Ser Ala
 115 120 125

Ile Gly Pro Arg Ser Pro Tyr Gly Phe Arg His Gly Ala Ser Val Asn
 130 135 140

Tyr Asp Asp Tyr
 145

<210> 22
 <211> 3144
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<220>
 <221> CDS
 <222> (642)..(1370)

<400> 22
 ggccttatgg ccgggggtct gcattccat cggaaagtgc gctggccaca tcccttcggc 60
 ctccgggcag tgttctgtct cccttagctc aggcagcag aaacttcagc tgtgaagtgg 120
 tgggtggagag agccctggga gcagcgactg gaccgggaca ccaagaagag agtggacgcg 180
 cccctcgact aggaatcgct ctgcagcgc gagaccagc atctcagcgc ctgcggtcgc 240
 gcttgcccgg ccgcgcgctt ttgctaggcg ccgccagccc cgaaggaccc tcggggtccg 300
 cggacccttc tgcagccggc ggaatcctaa agctgccaa agctcccggc ggggtgtcggc 360
 aaactttttc cgagcccacg tcttgaccaa acagcccggc tcgcttcag agcctggcat 420
 ggagcgcgcg gcctaggcac gccgtgcagc ccgagagacg cgagcgcacg gttcaccgtg 480
 gagggagaga tgcctatcga gccaaattga tcattgcagc ccagggcag tgacatctgt 540
 ctctgagtcc tccctaggag cgcgaccgc actgtctcct tccaggagcc cgtcatttcc 600
 tcgacttttg agaggtgtct ctcccagcc cgaccgtcca g atg cgt ttt tgc ctc 656
 Met Arg Phe Cys Leu
 1 5
 ttc tca ttt gcc ctc atc att ctg aac tgt atg gat tac agc cag tgc 704
 Phe Ser Phe Ala Leu Ile Ile Leu Asn Cys Met Asp Tyr Ser Gln Cys
 10 15 20
 caa ggc aac cga tgg aga cgc aat aag cga gct agt tat gta tca aat 752
 Gln Gly Asn Arg Trp Arg Arg Asn Lys Arg Ala Ser Tyr Val Ser Asn

25	30	35	
ccc att tgc aag ggt tgt ttg tct tgt tgc aag gac aat ggt tgc agc			800
Pro Ile Cys Lys Gly Cys Leu Ser Cys Ser Lys Asp Asn Gly Cys Ser			
40	45	50	
cga tgt caa cag aag ttg ttc ttt ttc ctt cga aga gaa gga atg cgt			848
Arg Cys Gln Gln Lys Leu Phe Phe Phe Leu Arg Arg Glu Gly Met Arg			
55	60	65	
cag tat gga gag tgc ctg cat tcc tgc cca tca ggg tat tat gga cac			896
Gln Tyr Gly Glu Cys Leu His Ser Cys Pro Ser Gly Tyr Tyr Gly His			
70	75	80	85
cga gcc cca gat atg aac aga tgt gca cga tgc aga ata gaa aac tgt			944
Arg Ala Pro Asp Met Asn Arg Cys Ala Arg Cys Arg Ile Glu Asn Cys			
90	95	100	
gat tct tgc ttt agc aaa gac ttt tgt acg aag tgc aaa gta ggc ttt			992
Asp Ser Cys Phe Ser Lys Asp Phe Cys Thr Lys Cys Lys Val Gly Phe			
105	110	115	
tat ttg cat aga ggc cgc tgc ttt gat gaa tgt cca gat ggt ttt gca			1040
Tyr Leu His Arg Gly Arg Cys Phe Asp Glu Cys Pro Asp Gly Phe Ala			
120	125	130	
ccg tta gat gag act atg gaa tgt gta gaa ggt tgt gaa gtt ggt cat			1088
Pro Leu Asp Glu Thr Met Glu Cys Val Glu Gly Cys Glu Val Gly His			
135	140	145	
tgg agc gaa tgg gga acg tgt agc aga aac aac cgc acg tgt gga ttt			1136
Trp Ser Glu Trp Gly Thr Cys Ser Arg Asn Asn Arg Thr Cys Gly Phe			
150	155	160	165
aaa tgg ggt ctg gaa acc aga aca cgg cag att gtt aaa aag cca gca			1184
Lys Trp Gly Leu Glu Thr Arg Thr Arg Gln Ile Val Lys Lys Pro Ala			
170	175	180	
aaa gac aca ata cca tgt ccg acc att gcg gag tcc agg aga tgc aag			1232
Lys Asp Thr Ile Pro Cys Pro Thr Ile Ala Glu Ser Arg Arg Cys Lys			
185	190	195	
atg gcc atg agg cac tgt cca gga gga aag aga aca cca aag gca aaa			1280
Met Ala Met Arg His Cys Pro Gly Gly Lys Arg Thr Pro Lys Ala Lys			
200	205	210	
gag aag aga aac aag aag aag agg cgg aag ctg att gag aga gcc caa			1328
Glu Lys Arg Asn Lys Lys Lys Arg Arg Lys Leu Ile Glu Arg Ala Gln			

215	220	225	
gag cag cac agc gtc ttc ctc gct aca gac aga gtg aac caa			1370
Glu Gln His Ser Val Phe Leu Ala Thr Asp Arg Val Asn Gln			
230	235	240	
taaaatacaa gaaatagctg gggcattttg aggttttctg ttttgtttat gttgttgttt			1430
tgcaaaagtg cacaaagcta ctctccagtc cactctggcg gacagcattc ctgatcctct			1490
gaccagtatc cattttcagt aatgctgcag agggagggtg ccaagcatgg actcagcggt			1550
atttatgctt tgattggaat ctggggcctg tgatggcagg agcttggtga gctgagtcag			1610
cgggagctga tgcattctga ctcttgatgat gagcacagtg tgcataaga acctgtccct			1670
ggcacggtgg acccacagga ggcacaaggc tgtagatcac caccagagaa tgcacctgtg			1730
cctattttga tggatggcaa tgctaagcaa gcaagcactg ttcacttggtg actttcattt			1790
ctcacactgt gcactgtcaa agacaaatgt gcatggaaaa atgttttagtg tcacctcatg			1850
gcgttctcag catcagtgac cttcaaaccg tcctacaatg agactgtggt ctagctaggg			1910
gtatgctgtg gaaattcctg ctacatttca tcttagtgct aacatgtaca gattctgctg			1970
cgctacattc aaagctcatt actgtatatt tatgctttct ctgtgtaaca agttatacct			2030
gataagatgt cactttgttt ctagtgttc ttaaccatgg tctggtacat ggctattcta			2090
gttttggaat ttaacaagtg tttgttgcc tctgttttc tttgttcct atcatttttg			2150
gcgggggttg ggtgggcttg attctaaccg taagtatagg ataagctagt tttgtatata			2210
gagtcaaatg actgatgtca gaggatcagt gctgatagaa cttccccagt tcatgtcacg			2270
atacacacag agagaaagca gcatgaggca tcttgccatc agaagccaaa tttcttttga			2330
gtcccaaat tgatgactta tgaaatatag ctgaaaacaa gatttgggtg tagttacttg			2390
tatttattat acaatttcca attacatttt tttcaaact caaaataacc catgactttg			2450
agtgataggt cacttggtga tgttcttgaa ttactgggga agctgttggtg actaagataa			2510
tgagagagaa aatagaatgg cttcgcccaa gtgagagcca catcttacat ttctctgttg			2570
aatcggaatc aactatatta gaacagaagc ctgatagaag ctttctagtt aacacacaca			2630

aggccatggt ttcaaaaaca tctttgtccc cttaggctcag tttgtcctta gattatgaat 2690
 tggcagggttc taattgcatt atttccttgg ctgatccagg aaaaagttag aacaaaataa 2750
 gttgcatagt tttagggaaa catccaaagc aaggcgaagc ctttccttgc cttgcattgg 2810
 caaaactacc tctttagcat ttatgttgat tcagaaacat cttgctgata tgtgtagatg 2870
 ttttaagcctt cattgtgaaa atattgatgc aagataagcc atatatgaat gttgtattca 2930
 actttagggc ttgaaattaa tcctaaagtg ttcacctctc tccatgtcta ttacactct 2990
 gttcctatit actaagaggg taggggtctc cttaatatca tacttcattg ttaataagtc 3050
 aatgcttggt atgtttcttg gctgttggtt ttgtgcatta aaaactcaaa attggaaaaa 3110
 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaa 3144

<210> 23
 <211> 243
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 23
 Met Arg Phe Cys Leu Phe Ser Phe Ala Leu Ile Ile Leu Asn Cys Met
 1 5 10 15

Asp Tyr Ser Gln Cys Gln Gly Asn Arg Trp Arg Arg Asn Lys Arg Ala
 20 25 30

Ser Tyr Val Ser Asn Pro Ile Cys Lys Gly Cys Leu Ser Cys Ser Lys
 35 40 45

Asp Asn Gly Cys Ser Arg Cys Gln Gln Lys Leu Phe Phe Phe Leu Arg
 50 55 60

Arg Glu Gly Met Arg Gln Tyr Gly Glu Cys Leu His Ser Cys Pro Ser
 65 70 75 80

Gly Tyr Tyr Gly His Arg Ala Pro Asp Met Asn Arg Cys Ala Arg Cys
 85 90 95

Arg Ile Glu Asn Cys Asp Ser Cys Phe Ser Lys Asp Phe Cys Thr Lys
100 105 110

Cys Lys Val Gly Phe Tyr Leu His Arg Gly Arg Cys Phe Asp Glu Cys
115 120 125

Pro Asp Gly Phe Ala Pro Leu Asp Glu Thr Met Glu Cys Val Glu Gly
130 135 140

Cys Glu Val Gly His Trp Ser Glu Trp Gly Thr Cys Ser Arg Asn Asn
145 150 155 160

Arg Thr Cys Gly Phe Lys Trp Gly Leu Glu Thr Arg Thr Arg Gln Ile
165 170 175

Val Lys Lys Pro Ala Lys Asp Thr Ile Pro Cys Pro Thr Ile Ala Glu
180 185 190

Ser Arg Arg Cys Lys Met Ala Met Arg His Cys Pro Gly Gly Lys Arg
195 200 205

Thr Pro Lys Ala Lys Glu Lys Arg Asn Lys Lys Lys Arg Arg Lys Leu
210 215 220

Ile Glu Arg Ala Gln Glu Gln His Ser Val Phe Leu Ala Thr Asp Arg
225 230 235 240

Val Asn Gln

<210> 24
<211> 843
<212> DNA
<213> Mus musculus

<220>
<221> CDS

<222> (132)..(506)

<400> 24

ggccattatg gccgggggct ttcgccgtcc gggagctgac cggccgtgtt cctctctcgt	60
cttctctctgc gccccgcgtc cccgccctcg cgaccccggc tctcttgac tcggcgccgc	120
caacctgggc g atg ccc cgc tac gag ttg gct ttg att ctg aaa gcc atg	170
Met Pro Arg Tyr Glu Leu Ala Leu Ile Leu Lys Ala Met	
1 5 10	
cgg cgg cca gag acc gct gct gct ttg aaa cgt aca ata gaa tcc ctg	218
Arg Arg Pro Glu Thr Ala Ala Ala Leu Lys Arg Thr Ile Glu Ser Leu	
15 20 25	
atg gac cga gga gcc ata gtg agg aac ttg gaa agc ctg ggt gag cgt	266
Met Asp Arg Gly Ala Ile Val Arg Asn Leu Glu Ser Leu Gly Glu Arg	
30 35 40 45	
gcg ctc ccc tac agg atc tcg agt cac agc cag cag cac agc cga gga	314
Ala Leu Pro Tyr Arg Ile Ser Ser His Ser Gln Gln His Ser Arg Gly	
50 55 60	
ggg tat ttc ctg gtg gat ttt tat gct ccg aca agt gct gtg gag aac	362
Gly Tyr Phe Leu Val Asp Phe Tyr Ala Pro Thr Ser Ala Val Glu Asn	
65 70 75	
ata ctg gaa cac ttg gcg cga gac att gac gtg gtt aga cca aat att	410
Ile Leu Glu His Leu Ala Arg Asp Ile Asp Val Val Arg Pro Asn Ile	
80 85 90	
gtg aaa cac cct ctg acc cag gaa gta aaa gag tgt gac ggc ata gtc	458
Val Lys His Pro Leu Thr Gln Glu Val Lys Glu Cys Asp Gly Ile Val	
95 100 105	
cca gtc cca ctt gaa gaa aaa ctg tat tca aca aag agg agg aag aag	506
Pro Val Pro Leu Glu Glu Lys Leu Tyr Ser Thr Lys Arg Arg Lys Lys	
110 115 120 125	
tgagaagatt caccagattc tggccttata tttaatccta agggcactat gggtgctgct	566
aggttgttgt ctaggatact ttagcccatg accattttgc tgcaggaggt agaaactgct	626
ggccgagacc tgccctgatg tctctgctga gatttcatcc cacttggtggg gtttgctcggg	686
agtgggggtg ttcacagtac cactgtagcg tttccaagag caaaatgttt gtcattcaca	746
cttggttgct ttgcaagcct atatggaaca ctgggagcag agtaataaac atgactttat	806

caacactgga aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaa

843

<210> 25
<211> 125
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 25
Met Pro Arg Tyr Glu Leu Ala Leu Ile Leu Lys Ala Met Arg Arg Pro
1 5 10 15

Glu Thr Ala Ala Ala Leu Lys Arg Thr Ile Glu Ser Leu Met Asp Arg
20 25 30

Gly Ala Ile Val Arg Asn Leu Glu Ser Leu Gly Glu Arg Ala Leu Pro
35 40 45

Tyr Arg Ile Ser Ser His Ser Gln Gln His Ser Arg Gly Gly Tyr Phe
50 55 60

Leu Val Asp Phe Tyr Ala Pro Thr Ser Ala Val Glu Asn Ile Leu Glu
65 70 75 80

His Leu Ala Arg Asp Ile Asp Val Val Arg Pro Asn Ile Val Lys His
85 90 95

Pro Leu Thr Gln Glu Val Lys Glu Cys Asp Gly Ile Val Pro Val Pro
100 105 110

Leu Glu Glu Lys Leu Tyr Ser Thr Lys Arg Arg Lys Lys
115 120 125

<210> 26
<211> 2490
<212> DNA
<213> Mus musculus

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(2487)

<400> 26

atg aag ccg ccc ggc agc atc tcc cgg cgg ccg acc ctg acg ggt tgc	48
Met Lys Pro Pro Gly Ser Ile Ser Arg Arg Pro Thr Leu Thr Gly Cys	
1 5 10 15	

agc ctt ccc ggc gcc tcc tgc ggc ccc ggc cgc tgc ccc gcc ggc ccg	96
Ser Leu Pro Gly Ala Ser Cys Gly Pro Gly Arg Cys Pro Ala Gly Pro	
20 25 30	

gtg ccg gcc cgc gcg ccg ccc tgc cgc ctg ctc ctc gtc ctt ctc ctg	144
Val Pro Ala Arg Ala Pro Pro Cys Arg Leu Leu Leu Val Leu Leu Leu	
35 40 45	

cta cct gcg ctc gcc acc tca tcc cgg ccc cgt gcc cgg ggg gcc gct	192
Leu Pro Ala Leu Ala Thr Ser Ser Arg Pro Arg Ala Arg Gly Ala Ala	
50 55 60	

gcg ccc agc gct ccg cac tgg aat gaa act gca gaa aaa acc ctg gga	240
Ala Pro Ser Ala Pro His Trp Asn Glu Thr Ala Glu Lys Thr Leu Gly	
65 70 75 80	

gtc ctg gca gat gaa gac aac aca ttg caa caa aat agc agc agc aga	288
Val Leu Ala Asp Glu Asp Asn Thr Leu Gln Gln Asn Ser Ser Ser Arg	
85 90 95	

aat acc agc tac agc agt gca gtg caa aaa gaa atc aca ctg cct tca	336
Asn Thr Ser Tyr Ser Ser Ala Val Gln Lys Glu Ile Thr Leu Pro Ser	
100 105 110	

aga ctg gtg tat tac atc aac cag gac tca gaa agc ccc tat cat gtt	384
Arg Leu Val Tyr Tyr Ile Asn Gln Asp Ser Glu Ser Pro Tyr His Val	
115 120 125	

ctt gac aca aag gcc aga cac caa cag aaa cac aat aag gct gtg cat	432
Leu Asp Thr Lys Ala Arg His Gln Gln Lys His Asn Lys Ala Val His	
130 135 140	

ctg gcc cag gca agc ttc cag atc gaa gct ttc ggc tcc aag ttc att	480
Leu Ala Gln Ala Ser Phe Gln Ile Glu Ala Phe Gly Ser Lys Phe Ile	
145 150 155 160	

ctt gac ctc aca ctg aac aat ggt ttg cta tct tct gac tac gtg gag	528
Leu Asp Leu Thr Leu Asn Asn Gly Leu Leu Ser Ser Asp Tyr Val Glu	
165 170 175	

atc cac tat gaa gac ggg aag cag atg tac tct aag ggt gga gag cac Ile His Tyr Glu Asp Gly Lys Gln Met Tyr Ser Lys Gly Gly Glu His 180 185 190	576
tgt tac tac cac gga agc atc aga ggc gtc aag gat tcc agg gtg gct Cys Tyr Tyr His Gly Ser Ile Arg Gly Val Lys Asp Ser Arg Val Ala 195 200 205	624
cta tcg acc tgc aat gga ctc cat ggc atg ttt gag gat gac acc ttt Leu Ser Thr Cys Asn Gly Leu His Gly Met Phe Glu Asp Asp Thr Phe 210 215 220	672
gtg tat atg ata gag cct ctg gaa ctg act gat gat gag aaa agc aca Val Tyr Met Ile Glu Pro Leu Glu Leu Thr Asp Asp Glu Lys Ser Thr 225 230 235 240	720
ggc cga ccg cac ata atc cag aaa acc ttg gca gga cag tat tct aag Gly Arg Pro His Ile Ile Gln Lys Thr Leu Ala Gly Gln Tyr Ser Lys 245 250 255	768
cag atg aag aat ctc agc aca gat ggc agt gac cag tgg cct ttg cta Gln Met Lys Asn Leu Ser Thr Asp Gly Ser Asp Gln Trp Pro Leu Leu 260 265 270	816
cct gaa tta caa tgg ctg aga aga agg aaa aga gcg gtc aat cca tct Pro Glu Leu Gln Trp Leu Arg Arg Arg Lys Arg Ala Val Asn Pro Ser 275 280 285	864
cgt ggt gtg ttt gaa gaa atg aag tat ttg gag ctt atg att gtt aat Arg Gly Val Phe Glu Glu Met Lys Tyr Leu Glu Leu Met Ile Val Asn 290 295 300	912
gat cac aag acg tat aag aag cac cgc tct tct cac gcg cat acc aac Asp His Lys Thr Tyr Lys Lys His Arg Ser Ser His Ala His Thr Asn 305 310 315 320	960
aac ttc gca aag tct gtg gtc aac ctt gta gat tct att tac aag gaa Asn Phe Ala Lys Ser Val Val Asn Leu Val Asp Ser Ile Tyr Lys Glu 325 330 335	1008
cag ctc aac acc agg gtt gtc ctg gtg gct gtc gag acc tgg acc gag Gln Leu Asn Thr Arg Val Val Leu Val Ala Val Glu Thr Trp Thr Glu 340 345 350	1056
aag gat cac att gac atc acc atc aac ccc gtg cag atg cta cat gac Lys Asp His Ile Asp Ile Thr Ile Asn Pro Val Gln Met Leu His Asp 355 360 365	1104

ttc tcc aag tac cgg cag cga atc aaa cag cac gct gac gcg gtc cac Phe Ser Lys Tyr Arg Gln Arg Ile Lys Gln His Ala Asp Ala Val His 370 375 380	1152
ctc atc tcg cgc gtg aca ttc cat tat aag aga agc agt ctg agt tac Leu Ile Ser Arg Val Thr Phe His Tyr Lys Arg Ser Ser Leu Ser Tyr 385 390 395 400	1200
ttt gga ggc gtg tgt tct cga ata aga ggg gtt ggt gtg aat gag tat Phe Gly Gly Val Cys Ser Arg Ile Arg Gly Val Gly Val Asn Glu Tyr 405 410 415	1248
ggc ctt cca atg gcg gtg gca caa gta tta tca cag agc ctg gct caa Gly Leu Pro Met Ala Val Ala Gln Val Leu Ser Gln Ser Leu Ala Gln 420 425 430	1296
aac ctt gga atc cag tgg gaa cct tcg agc agg aag cca aaa tgt gaa Asn Leu Gly Ile Gln Trp Glu Pro Ser Ser Arg Lys Pro Lys Cys Glu 435 440 445	1344
tgc ata gag tcc tgg ggc ggc tgc atc atg gaa gaa aca ggg gtg tcc Cys Ile Glu Ser Trp Gly Gly Cys Ile Met Glu Glu Thr Gly Val Ser 450 455 460	1392
cac tct cga aag ttc tca aag tgc agc att ttg gag tac aga gac ttt His Ser Arg Lys Phe Ser Lys Cys Ser Ile Leu Glu Tyr Arg Asp Phe 465 470 475 480	1440
tta cag aga ggt ggc gga gca tgt ctt ttc aat agg cca act aag ctg Leu Gln Arg Gly Gly Gly Ala Cys Leu Phe Asn Arg Pro Thr Lys Leu 485 490 495	1488
ttt gag ccc acg gaa tgt gga aat gga tat gtg gag gcc ggg gag gaa Phe Glu Pro Thr Glu Cys Gly Asn Gly Tyr Val Glu Ala Gly Glu Glu 500 505 510	1536
tgc gac tgt ggt ttc cat gtg gaa tgc tat gga gtt tgc tgt aag aag Cys Asp Cys Gly Phe His Val Glu Cys Tyr Gly Val Cys Cys Lys Lys 515 520 525	1584
tgt tcg ctc tcc aat ggg gcc cac tgc agt gac ggc ccc tgc tgt aac Cys Ser Leu Ser Asn Gly Ala His Cys Ser Asp Gly Pro Cys Cys Asn 530 535 540	1632
aac acc tca tgt ctt ttt cag tca cga ggg tat gaa tgt cgg gat gcc Asn Thr Ser Cys Leu Phe Gln Ser Arg Gly Tyr Glu Cys Arg Asp Ala 545 550 555 560	1680

gta aac agc tgt gat atc acc gag tac tgc act gga gac tct ggc cag Val Asn Ser Cys Asp Ile Thr Glu Tyr Cys Thr Gly Asp Ser Gly Gln 565 570 575	1728
tgc cca ccg aac ctc cat aaa caa gat ggc tat agc tgc aat caa aat Cys Pro Pro Asn Leu His Lys Gln Asp Gly Tyr Ser Cys Asn Gln Asn 580 585 590	1776
cag ggt cgc tgc tac aat ggc gag tgc aag aca agg gac aat caa tgc Gln Gly Arg Cys Tyr Asn Gly Glu Cys Lys Thr Arg Asp Asn Gln Cys 595 600 605	1824
cag tac atc tgg ggg aca aag gct gcg ggg tca gac aag ttc tgc tat Gln Tyr Ile Trp Gly Thr Lys Ala Ala Gly Ser Asp Lys Phe Cys Tyr 610 615 620	1872
gaa aag ctg aac acg gaa ggc acc gag aag ggc aat tgt gga aag gat Glu Lys Leu Asn Thr Glu Gly Thr Glu Lys Gly Asn Cys Gly Lys Asp 625 630 635 640	1920
gga gac cgg tgg atc ccg tgc agc aag cat gat gtg ttc tgt gga ttt Gly Asp Arg Trp Ile Pro Cys Ser Lys His Asp Val Phe Cys Gly Phe 645 650 655	1968
ctg ctt tgc acc aat ctt acc cga gct cca cgt atc ggt caa ctt caa Leu Leu Cys Thr Asn Leu Thr Arg Ala Pro Arg Ile Gly Gln Leu Gln 660 665 670	2016
gga gag atc atc ccg act tcc ttc tat cat caa ggc cga gtg att gac Gly Glu Ile Ile Pro Thr Ser Phe Tyr His Gln Gly Arg Val Ile Asp 675 680 685	2064
tgc agt ggt gct cat gta gtt tta gac gat gat aca gac gtg ggt tac Cys Ser Gly Ala His Val Val Leu Asp Asp Asp Thr Asp Val Gly Tyr 690 695 700	2112
gtt gaa gat ggg act ccg tgt ggc ccc tcc atg atg tgc tta gat cgg Val Glu Asp Gly Thr Pro Cys Gly Pro Ser Met Met Cys Leu Asp Arg 705 710 715 720	2160
aag tgc cta cag att caa gcc ctg aat atg agc agc tgc cca ctt gac Lys Cys Leu Gln Ile Gln Ala Leu Asn Met Ser Ser Cys Pro Leu Asp 725 730 735	2208
tca agg ggt aaa gtc tgc tcc ggc cac ggg gtg tgt agc aac gaa gcc Ser Arg Gly Lys Val Cys Ser Gly His Gly Val Cys Ser Asn Glu Ala 740 745 750	2256

acc tgc atc tgt gat ttc act tgg gca ggc aca gac tgc agc atc cgg 2304
 Thr Cys Ile Cys Asp Phe Thr Trp Ala Gly Thr Asp Cys Ser Ile Arg
 755 760 765

gat cca gtt cgg aac ccc aac ccc cct aag gat gaa ggc cct aag ggt 2352
 Asp Pro Val Arg Asn Pro Asn Pro Pro Lys Asp Glu Gly Pro Lys Gly
 770 775 780

cct agc gcc acc aat ctc ata ata ggc tcc atc gct ggt gcc atc ctg 2400
 Pro Ser Ala Thr Asn Leu Ile Ile Gly Ser Ile Ala Gly Ala Ile Leu
 785 790 795 800

gta gca gct att gtc ctt ggg ggc aca ggc tgg gga ttt aaa aac gtc 2448
 Val Ala Ala Ile Val Leu Gly Gly Thr Gly Trp Gly Phe Lys Asn Val
 805 810 815

aag aag agg aga ttc gat ccc act cag caa ggc ccc atc tga 2490
 Lys Lys Arg Arg Phe Asp Pro Thr Gln Gln Gly Pro Ile
 820 825

<210> 27
 <211> 829
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 27
 Met Lys Pro Pro Gly Ser Ile Ser Arg Arg Pro Thr Leu Thr Gly Cys
 1 5 10 15

Ser Leu Pro Gly Ala Ser Cys Gly Pro Gly Arg Cys Pro Ala Gly Pro
 20 25 30

Val Pro Ala Arg Ala Pro Pro Cys Arg Leu Leu Leu Val Leu Leu Leu
 35 40 45

Leu Pro Ala Leu Ala Thr Ser Ser Arg Pro Arg Ala Arg Gly Ala Ala
 50 55 60

Ala Pro Ser Ala Pro His Trp Asn Glu Thr Ala Glu Lys Thr Leu Gly
 65 70 75 80

Val Leu Ala Asp Glu Asp Asn Thr Leu Gln Gln Asn Ser Ser Ser Arg

85	90	95
Asn Thr Ser Tyr Ser Ser Ala Val Gln Lys Glu Ile Thr Leu Pro Ser		
100	105	110
Arg Leu Val Tyr Tyr Ile Asn Gln Asp Ser Glu Ser Pro Tyr His Val		
115	120	125
Leu Asp Thr Lys Ala Arg His Gln Gln Lys His Asn Lys Ala Val His		
130	135	140
Leu Ala Gln Ala Ser Phe Gln Ile Glu Ala Phe Gly Ser Lys Phe Ile		
145	150	155
Leu Asp Leu Thr Leu Asn Asn Gly Leu Leu Ser Ser Asp Tyr Val Glu		
165	170	175
Ile His Tyr Glu Asp Gly Lys Gln Met Tyr Ser Lys Gly Gly Glu His		
180	185	190
Cys Tyr Tyr His Gly Ser Ile Arg Gly Val Lys Asp Ser Arg Val Ala		
195	200	205
Leu Ser Thr Cys Asn Gly Leu His Gly Met Phe Glu Asp Asp Thr Phe		
210	215	220
Val Tyr Met Ile Glu Pro Leu Glu Leu Thr Asp Asp Glu Lys Ser Thr		
225	230	235
Gly Arg Pro His Ile Ile Gln Lys Thr Leu Ala Gly Gln Tyr Ser Lys		
245	250	255
Gln Met Lys Asn Leu Ser Thr Asp Gly Ser Asp Gln Trp Pro Leu Leu		
260	265	270
Pro Glu Leu Gln Trp Leu Arg Arg Arg Lys Arg Ala Val Asn Pro Ser		

275	280	285
Arg Gly Val Phe Glu Glu Met Lys Tyr Leu Glu Leu Met Ile Val Asn		
290	295	300
Asp His Lys Thr Tyr Lys Lys His Arg Ser Ser His Ala His Thr Asn		
305	310	315
Asn Phe Ala Lys Ser Val Val Asn Leu Val Asp Ser Ile Tyr Lys Glu		
	325	330
		335
Gln Leu Asn Thr Arg Val Val Leu Val Ala Val Glu Thr Trp Thr Glu		
	340	345
		350
Lys Asp His Ile Asp Ile Thr Ile Asn Pro Val Gln Met Leu His Asp		
	355	360
		365
Phe Ser Lys Tyr Arg Gln Arg Ile Lys Gln His Ala Asp Ala Val His		
	370	375
		380
Leu Ile Ser Arg Val Thr Phe His Tyr Lys Arg Ser Ser Leu Ser Tyr		
	385	390
		395
		400
Phe Gly Gly Val Cys Ser Arg Ile Arg Gly Val Gly Val Asn Glu Tyr		
	405	410
		415
Gly Leu Pro Met Ala Val Ala Gln Val Leu Ser Gln Ser Leu Ala Gln		
	420	425
		430
Asn Leu Gly Ile Gln Trp Glu Pro Ser Ser Arg Lys Pro Lys Cys Glu		
	435	440
		445
Cys Ile Glu Ser Trp Gly Gly Cys Ile Met Glu Glu Thr Gly Val Ser		
	450	455
		460
His Ser Arg Lys Phe Ser Lys Cys Ser Ile Leu Glu Tyr Arg Asp Phe		

465	470	475	480
Leu Gln Arg Gly Gly Gly Ala Cys Leu Phe Asn Arg Pro Thr Lys Leu	485	490	495
Phe Glu Pro Thr Glu Cys Gly Asn Gly Tyr Val Glu Ala Gly Glu Glu	500	505	510
Cys Asp Cys Gly Phe His Val Glu Cys Tyr Gly Val Cys Cys Lys Lys	515	520	525
Cys Ser Leu Ser Asn Gly Ala His Cys Ser Asp Gly Pro Cys Cys Asn	530	535	540
Asn Thr Ser Cys Leu Phe Gln Ser Arg Gly Tyr Glu Cys Arg Asp Ala	545	550	555
Val Asn Ser Cys Asp Ile Thr Glu Tyr Cys Thr Gly Asp Ser Gly Gln	565	570	575
Cys Pro Pro Asn Leu His Lys Gln Asp Gly Tyr Ser Cys Asn Gln Asn	580	585	590
Gln Gly Arg Cys Tyr Asn Gly Glu Cys Lys Thr Arg Asp Asn Gln Cys	595	600	605
Gln Tyr Ile Trp Gly Thr Lys Ala Ala Gly Ser Asp Lys Phe Cys Tyr	610	615	620
Glu Lys Leu Asn Thr Glu Gly Thr Glu Lys Gly Asn Cys Gly Lys Asp	625	630	635
Gly Asp Arg Trp Ile Pro Cys Ser Lys His Asp Val Phe Cys Gly Phe	645	650	655
Leu Leu Cys Thr Asn Leu Thr Arg Ala Pro Arg Ile Gly Gln Leu Gln			

660	665	670
Gly Glu Ile Ile Pro Thr Ser Phe Tyr His Gln Gly Arg Val Ile Asp		
675	680	685
Cys Ser Gly Ala His Val Val Leu Asp Asp Asp Thr Asp Val Gly Tyr		
690	695	700
Val Glu Asp Gly Thr Pro Cys Gly Pro Ser Met Met Cys Leu Asp Arg		
705	710	715
Lys Cys Leu Gln Ile Gln Ala Leu Asn Met Ser Ser Cys Pro Leu Asp		
725	730	735
Ser Arg Gly Lys Val Cys Ser Gly His Gly Val Cys Ser Asn Glu Ala		
740	745	750
Thr Cys Ile Cys Asp Phe Thr Trp Ala Gly Thr Asp Cys Ser Ile Arg		
755	760	765
Asp Pro Val Arg Asn Pro Asn Pro Pro Lys Asp Glu Gly Pro Lys Gly		
770	775	780
Pro Ser Ala Thr Asn Leu Ile Ile Gly Ser Ile Ala Gly Ala Ile Leu		
785	790	795
Val Ala Ala Ile Val Leu Gly Gly Thr Gly Trp Gly Phe Lys Asn Val		
805	810	815
Lys Lys Arg Arg Phe Asp Pro Thr Gln Gln Gly Pro Ile		
820	825	

<210> 28
 <211> 2499
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(2496)

<400> 28

atg aag ccg ccc ggc agc agc tcg cgg cag ccg ccc ctg gcg ggc tgc	48
Met Lys Pro Pro Gly Ser Ser Ser Arg Gln Pro Pro Leu Ala Gly Cys	
1 5 10 15	

agc ctt gcc ggc gct tcc tgc ggc ccc caa cgc ggc ccc gcc ggc tcg	96
Ser Leu Ala Gly Ala Ser Cys Gly Pro Gln Arg Gly Pro Ala Gly Ser	
20 25 30	

gtg cct gcc agc gcc ccg gcc cgc acg ccg ccc tgc cgc ctg ctt ctc	144
Val Pro Ala Ser Ala Pro Ala Arg Thr Pro Pro Cys Arg Leu Leu Leu	
35 40 45	

gtc ctt ctc ctg ctg cct ccg ctc gcc gcc tcg tcc cgg ccc cgc gcc	192
Val Leu Leu Leu Leu Pro Pro Leu Ala Ala Ser Ser Arg Pro Arg Ala	
50 55 60	

tgg ggg gct gct gcg ccc agc gct ccg cat tgg aat gaa act gca gaa	240
Trp Gly Ala Ala Ala Pro Ser Ala Pro His Trp Asn Glu Thr Ala Glu	
65 70 75 80	

aaa aat ttg gga gtc ctg gca gat gaa gac aat aca ttg caa cag aat	288
Lys Asn Leu Gly Val Leu Ala Asp Glu Asp Asn Thr Leu Gln Gln Asn	
85 90 95	

agc agc agt aat atc agt tac agc aat gca atg cag aaa gaa atc aca	336
Ser Ser Ser Asn Ile Ser Tyr Ser Asn Ala Met Gln Lys Glu Ile Thr	
100 105 110	

ctg cct tca aga ctc ata tat tac atc aac caa gac tcg gaa agc cct	384
Leu Pro Ser Arg Leu Ile Tyr Tyr Ile Asn Gln Asp Ser Glu Ser Pro	
115 120 125	

tat cac gtt ctt gac aca aag gca aga cac cag caa aaa cat aat aag	432
Tyr His Val Leu Asp Thr Lys Ala Arg His Gln Gln Lys His Asn Lys	
130 135 140	

gct gtc cat ctg gcc cag gca agc ttc cag att gaa gcc ttc ggc tcc	480
Ala Val His Leu Ala Gln Ala Ser Phe Gln Ile Glu Ala Phe Gly Ser	
145 150 155 160	

aaa ttc att ctt gac ctc ata ctg aac aat ggt ttg ttg tct tct gat	528
Lys Phe Ile Leu Asp Leu Ile Leu Asn Asn Gly Leu Leu Ser Ser Asp	
165 170 175	

tat gtg gag att cac tac gaa aat ggg aaa cca cag tac tct aag ggt Tyr Val Glu Ile His Tyr Glu Asn Gly Lys Pro Gln Tyr Ser Lys Gly 180 185 190	576
gga gag cac tgt tac tac cat gga agc atc aga ggc gtc aaa gac tcc Gly Glu His Cys Tyr Tyr His Gly Ser Ile Arg Gly Val Lys Asp Ser 195 200 205	624
aag gtg gct ctg tca acc tgc aat gga ctt cat ggc atg ttt gaa gat Lys Val Ala Leu Ser Thr Cys Asn Gly Leu His Gly Met Phe Glu Asp 210 215 220	672
gat acc ttc gtg tat atg ata gag cca cta gag ctg gtt cat gat gag Asp Thr Phe Val Tyr Met Ile Glu Pro Leu Glu Leu Val His Asp Glu 225 230 235 240	720
aaa agc aca ggt cga cca cat ata atc cag aaa acc ttg gca gga cag Lys Ser Thr Gly Arg Pro His Ile Ile Gln Lys Thr Leu Ala Gly Gln 245 250 255	768
tat tct aag caa atg aag aat ctc act atg gaa aga ggt gac cag tgg Tyr Ser Lys Gln Met Lys Asn Leu Thr Met Glu Arg Gly Asp Gln Trp 260 265 270	816
ccc ttt ctc tct gaa tta cag tgg ttg aaa aga agg aag aga gca gtg Pro Phe Leu Ser Glu Leu Gln Trp Leu Lys Arg Arg Lys Arg Ala Val 275 280 285	864
aat cca tca cgt ggt ata ttt gaa gaa atg aaa tat ttg gaa ctt atg Asn Pro Ser Arg Gly Ile Phe Glu Glu Met Lys Tyr Leu Glu Leu Met 290 295 300	912
att gtt aat gat cac aaa acg tat aag aag cat cgc tct tct cat gca Ile Val Asn Asp His Lys Thr Tyr Lys Lys His Arg Ser Ser His Ala 305 310 315 320	960
cat acc aac aac ttt gca aag tcc gtg gtc aac ctt gtg gat tct att His Thr Asn Asn Phe Ala Lys Ser Val Val Asn Leu Val Asp Ser Ile 325 330 335	1008
tac aag gag cag ctc aac acc agg gtt gtc ctg gtg gct gta gag acc Tyr Lys Glu Gln Leu Asn Thr Arg Val Val Leu Val Ala Val Glu Thr 340 345 350	1056
tgg act gag aag gat cag att gac atc acc acc aac cct gtg cag atg Trp Thr Glu Lys Asp Gln Ile Asp Ile Thr Thr Asn Pro Val Gln Met 355 360 365	1104

ctc cat gag ttc tca aaa tac cgg cag cgc att aag cag cat gct gat Leu His Glu Phe Ser Lys Tyr Arg Gln Arg Ile Lys Gln His Ala Asp 370 375 380	1152
gct gtg cac ctc atc tcg cgg gtg aca ttt cac tat aag aga agc agt Ala Val His Leu Ile Ser Arg Val Thr Phe His Tyr Lys Arg Ser Ser 385 390 395 400	1200
ctg agt tac ttt gga ggt gtc tgt tct cgc aca aga gga gtt ggt gtg Leu Ser Tyr Phe Gly Gly Val Cys Ser Arg Thr Arg Gly Val Gly Val 405 410 415	1248
aat gag tat ggt ctt cca atg gca gtg gca caa gta tta tcg cag agc Asn Glu Tyr Gly Leu Pro Met Ala Val Ala Gln Val Leu Ser Gln Ser 420 425 430	1296
ctg gct caa aac ctt gga atc caa tgg gaa cct tct agc aga aag cca Leu Ala Gln Asn Leu Gly Ile Gln Trp Glu Pro Ser Ser Arg Lys Pro 435 440 445	1344
aaa tgt gac tgc aca gaa tcc tgg ggt ggc tgc atc atg gag gaa aca Lys Cys Asp Cys Thr Glu Ser Trp Gly Gly Cys Ile Met Glu Glu Thr 450 455 460	1392
ggg gtg tcc cat tct cga aaa ttt tca aag tgc agc att ttg gag tat Gly Val Ser His Ser Arg Lys Phe Ser Lys Cys Ser Ile Leu Glu Tyr 465 470 475 480	1440
aga gac ttt tta cag aga gga ggt gga gcc tgc ctt ttc aac agg cca Arg Asp Phe Leu Gln Arg Gly Gly Gly Ala Cys Leu Phe Asn Arg Pro 485 490 495	1488
aca aag cta ttt gag ccc acg gaa tgt gga aat gga tac gtg gaa gct Thr Lys Leu Phe Glu Pro Thr Glu Cys Gly Asn Gly Tyr Val Glu Ala 500 505 510	1536
ggg gag gag tgt gat tgt ggt ttt cat gtg gaa tgc tat gga tta tgc Gly Glu Glu Cys Asp Cys Gly Phe His Val Glu Cys Tyr Gly Leu Cys 515 520 525	1584
tgt aag aaa tgt tcc ctc tcc aac ggg gct cac tgc agc gac ggg ccc Cys Lys Lys Cys Ser Leu Ser Asn Gly Ala His Cys Ser Asp Gly Pro 530 535 540	1632
tgc tgt aac aat acc tca tgt ctt ttt cag cca cga ggg tat gaa tgc Cys Cys Asn Asn Thr Ser Cys Leu Phe Gln Pro Arg Gly Tyr Glu Cys 545 550 555 560	1680

cgg gat gct gtg aac gag tgt gat att act gaa tat tgt act gga gac Arg Asp Ala Val Asn Glu Cys Asp Ile Thr Glu Tyr Cys Thr Gly Asp 565 570 575	1728
tct ggt cag tgc cca cca aat ctt cat aag caa gac gga tat gca tgc Ser Gly Gln Cys Pro Pro Asn Leu His Lys Gln Asp Gly Tyr Ala Cys 580 585 590	1776
aat caa aat cag ggc cgc tgc tac aat ggc gag tgc aag acc aga gac Asn Gln Asn Gln Gly Arg Cys Tyr Asn Gly Glu Cys Lys Thr Arg Asp 595 600 605	1824
aac cag tgt cag tac atc tgg gga aca aag gct gca ggg tct gac aag Asn Gln Cys Gln Tyr Ile Trp Gly Thr Lys Ala Ala Gly Ser Asp Lys 610 615 620	1872
ttc tgc tat gaa aag ctg aat aca gaa ggc act gag aag gga aac tgc Phe Cys Tyr Glu Lys Leu Asn Thr Glu Gly Thr Glu Lys Gly Asn Cys 625 630 635 640	1920
ggg aag gat gga gac cgg tgg att cag tgc agc aaa cat gat gtg ttc Gly Lys Asp Gly Asp Arg Trp Ile Gln Cys Ser Lys His Asp Val Phe 645 650 655	1968
tgt gga ttc tta ctc tgt acc aat ctt act cga gct cca cgt att ggt Cys Gly Phe Leu Leu Cys Thr Asn Leu Thr Arg Ala Pro Arg Ile Gly 660 665 670	2016
caa ctt cag ggt gag atc att cca act tcc ttc tac cat caa ggc cgg Gln Leu Gln Gly Glu Ile Ile Pro Thr Ser Phe Tyr His Gln Gly Arg 675 680 685	2064
gtg att gac tgc agt ggt gcc cat gta gtt tta gat gat gat acg gat Val Ile Asp Cys Ser Gly Ala His Val Val Leu Asp Asp Asp Thr Asp 690 695 700	2112
gtg ggc tat gta gaa gat gga acg cca tgt ggc ccg tct atg atg tgt Val Gly Tyr Val Glu Asp Gly Thr Pro Cys Gly Pro Ser Met Met Cys 705 710 715 720	2160
tta gat cgg aag tgc cta caa att caa gcc cta aat atg agc agc tgt Leu Asp Arg Lys Cys Leu Gln Ile Gln Ala Leu Asn Met Ser Ser Cys 725 730 735	2208
cca ctc gat tcc aag ggt aaa gtc tgt tcg ggc cat ggg gtg tgt agt Pro Leu Asp Ser Lys Gly Lys Val Cys Ser Gly His Gly Val Cys Ser 740 745 750	2256

aat gaa gcc acc tgc att tgt gat ttc acc tgg gca ggg aca gat tgc 2304
 Asn Glu Ala Thr Cys Ile Cys Asp Phe Thr Trp Ala Gly Thr Asp Cys
 755 760 765

agt atc cgg gat cca gtt agg aac ctt cac ccc ccc aag gat gaa gga 2352
 Ser Ile Arg Asp Pro Val Arg Asn Leu His Pro Pro Lys Asp Glu Gly
 770 775 780

ccc aag ggt cct agt gcc acc aat ctc ata ata ggc tcc atc gct ggt 2400
 Pro Lys Gly Pro Ser Ala Thr Asn Leu Ile Ile Gly Ser Ile Ala Gly
 785 790 795 800

gcc atc ctg gta gca gct att gtc ctt ggg ggc aca ggc tgg gga ttt 2448
 Ala Ile Leu Val Ala Ala Ile Val Leu Gly Gly Thr Gly Trp Gly Phe
 805 810 815

aaa aat gtc aag aag aga agg ttc gat cct act cag caa ggc ccc atc 2496
 Lys Asn Val Lys Lys Arg Arg Phe Asp Pro Thr Gln Gln Gly Pro Ile
 820 825 830

tga 2499

<210> 29
 <211> 832
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 29
 Met Lys Pro Pro Gly Ser Ser Ser Arg Gln Pro Pro Leu Ala Gly Cys
 1 5 10 15

Ser Leu Ala Gly Ala Ser Cys Gly Pro Gln Arg Gly Pro Ala Gly Ser
 20 25 30

Val Pro Ala Ser Ala Pro Ala Arg Thr Pro Pro Cys Arg Leu Leu Leu
 35 40 45

Val Leu Leu Leu Leu Pro Pro Leu Ala Ala Ser Ser Arg Pro Arg Ala
 50 55 60

Trp Gly Ala Ala Ala Pro Ser Ala Pro His Trp Asn Glu Thr Ala Glu
 65 70 75 80

Lys Asn Leu Gly Val Leu Ala Asp Glu Asp Asn Thr Leu Gln Gln Asn
85 90 95

Ser Ser Ser Asn Ile Ser Tyr Ser Asn Ala Met Gln Lys Glu Ile Thr
100 105 110

Leu Pro Ser Arg Leu Ile Tyr Tyr Ile Asn Gln Asp Ser Glu Ser Pro
115 120 125

Tyr His Val Leu Asp Thr Lys Ala Arg His Gln Gln Lys His Asn Lys
130 135 140

Ala Val His Leu Ala Gln Ala Ser Phe Gln Ile Glu Ala Phe Gly Ser
145 150 155 160

Lys Phe Ile Leu Asp Leu Ile Leu Asn Asn Gly Leu Leu Ser Ser Asp
165 170 175

Tyr Val Glu Ile His Tyr Glu Asn Gly Lys Pro Gln Tyr Ser Lys Gly
180 185 190

Gly Glu His Cys Tyr Tyr His Gly Ser Ile Arg Gly Val Lys Asp Ser
195 200 205

Lys Val Ala Leu Ser Thr Cys Asn Gly Leu His Gly Met Phe Glu Asp
210 215 220

Asp Thr Phe Val Tyr Met Ile Glu Pro Leu Glu Leu Val His Asp Glu
225 230 235 240

Lys Ser Thr Gly Arg Pro His Ile Ile Gln Lys Thr Leu Ala Gly Gln
245 250 255

Tyr Ser Lys Gln Met Lys Asn Leu Thr Met Glu Arg Gly Asp Gln Trp
260 265 270

Pro Phe Leu Ser Glu Leu Gln Trp Leu Lys Arg Arg Lys Arg Ala Val
275 280 285

Asn Pro Ser Arg Gly Ile Phe Glu Glu Met Lys Tyr Leu Glu Leu Met
290 295 300

Ile Val Asn Asp His Lys Thr Tyr Lys Lys His Arg Ser Ser His Ala
305 310 315 320

His Thr Asn Asn Phe Ala Lys Ser Val Val Asn Leu Val Asp Ser Ile
325 330 335

Tyr Lys Glu Gln Leu Asn Thr Arg Val Val Leu Val Ala Val Glu Thr
340 345 350

Trp Thr Glu Lys Asp Gln Ile Asp Ile Thr Thr Asn Pro Val Gln Met
355 360 365

Leu His Glu Phe Ser Lys Tyr Arg Gln Arg Ile Lys Gln His Ala Asp
370 375 380

Ala Val His Leu Ile Ser Arg Val Thr Phe His Tyr Lys Arg Ser Ser
385 390 395 400

Leu Ser Tyr Phe Gly Gly Val Cys Ser Arg Thr Arg Gly Val Gly Val
405 410 415

Asn Glu Tyr Gly Leu Pro Met Ala Val Ala Gln Val Leu Ser Gln Ser
420 425 430

Leu Ala Gln Asn Leu Gly Ile Gln Trp Glu Pro Ser Ser Arg Lys Pro
435 440 445

Lys Cys Asp Cys Thr Glu Ser Trp Gly Gly Cys Ile Met Glu Glu Thr
450 455 460

Gly Val Ser His Ser Arg Lys Phe Ser Lys Cys Ser Ile Leu Glu Tyr
 465 470 475 480

Arg Asp Phe Leu Gln Arg Gly Gly Gly Ala Cys Leu Phe Asn Arg Pro
 485 490 495

Thr Lys Leu Phe Glu Pro Thr Glu Cys Gly Asn Gly Tyr Val Glu Ala
 500 505 510

Gly Glu Glu Cys Asp Cys Gly Phe His Val Glu Cys Tyr Gly Leu Cys
 515 520 525

Cys Lys Lys Cys Ser Leu Ser Asn Gly Ala His Cys Ser Asp Gly Pro
 530 535 540

Cys Cys Asn Asn Thr Ser Cys Leu Phe Gln Pro Arg Gly Tyr Glu Cys
 545 550 555 560

Arg Asp Ala Val Asn Glu Cys Asp Ile Thr Glu Tyr Cys Thr Gly Asp
 565 570 575

Ser Gly Gln Cys Pro Pro Asn Leu His Lys Gln Asp Gly Tyr Ala Cys
 580 585 590

Asn Gln Asn Gln Gly Arg Cys Tyr Asn Gly Glu Cys Lys Thr Arg Asp
 595 600 605

Asn Gln Cys Gln Tyr Ile Trp Gly Thr Lys Ala Ala Gly Ser Asp Lys
 610 615 620

Phe Cys Tyr Glu Lys Leu Asn Thr Glu Gly Thr Glu Lys Gly Asn Cys
 625 630 635 640

Gly Lys Asp Gly Asp Arg Trp Ile Gln Cys Ser Lys His Asp Val Phe
 645 650 655

Cys Gly Phe Leu Leu Cys Thr Asn Leu Thr Arg Ala Pro Arg Ile Gly
660 665 670

Gln Leu Gln Gly Glu Ile Ile Pro Thr Ser Phe Tyr His Gln Gly Arg
675 680 685

Val Ile Asp Cys Ser Gly Ala His Val Val Leu Asp Asp Thr Asp
690 695 700

Val Gly Tyr Val Glu Asp Gly Thr Pro Cys Gly Pro Ser Met Met Cys
705 710 715 720

Leu Asp Arg Lys Cys Leu Gln Ile Gln Ala Leu Asn Met Ser Ser Cys
725 730 735

Pro Leu Asp Ser Lys Gly Lys Val Cys Ser Gly His Gly Val Cys Ser
740 745 750

Asn Glu Ala Thr Cys Ile Cys Asp Phe Thr Trp Ala Gly Thr Asp Cys
755 760 765

Ser Ile Arg Asp Pro Val Arg Asn Leu His Pro Pro Lys Asp Glu Gly
770 775 780

Pro Lys Gly Pro Ser Ala Thr Asn Leu Ile Ile Gly Ser Ile Ala Gly
785 790 795 800

Ala Ile Leu Val Ala Ala Ile Val Leu Gly Gly Thr Gly Trp Gly Phe
805 810 815

Lys Asn Val Lys Lys Arg Arg Phe Asp Pro Thr Gln Gln Gly Pro Ile
820 825 830

<210> 30

<211> 37

<212> DNA
 <213> Artificial/Unknown

 <220>
 <223> primer

 <400> 30
 ccggtcgacc accatggaac tccggacccg aggctgg 37

<210> 31
 <211> 32
 <212> DNA
 <213> Artificial/Unknown

 <220>
 <223> primer

 <400> 31
 ccgaattctt accgccacct gggcctggct gc 32

<210> 32
 <211> 35
 <212> DNA
 <213> Artificial/Unknown

 <220>
 <223> primer

 <400> 32
 ccgctcgagc caccatgaag ccttttcata ctgcc 35

<210> 33
 <211> 30
 <212> DNA
 <213> Artificial/Unknown

 <220>
 <223> primer

 <400> 33
 tccgaattct tattgtttgt aggtccgtgg 30

<210> 34
 <211> 36

<212> DNA
 <213> Artificial/Unknown

 <220>
 <223> primer

 <400> 34
 ccgctcgagc caccatgttg gctgcaaggc tgggtg 36

 <210> 35
 <211> 31
 <212> DNA
 <213> Artificial/Unknown

 <220>
 <223> primer

 <400> 35
 ccggatatct catttctttc tgttgccctcc a 31

 <210> 36
 <211> 34
 <212> DNA
 <213> Artificial/Unknown

 <220>
 <223> primer

 <400> 36
 ccgctcgagc caccatgagc acctcgtctg cgcg 34

 <210> 37
 <211> 29
 <212> DNA
 <213> Artificial/Unknown

 <220>
 <223> primer

 <400> 37
 tccgttaact taatagtcac catagttca 29

 <210> 38
 <211> 20

<212> DNA
<213> Artificial/Unknown

<220>
<223> primer

<400> 38
agctcattac tgtatattta 20

<210> 39
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial/Unknown

<220>
<223> primer

<400> 39
gctatatttc ataagtcac 20

<210> 40
<211> 26
<212> DNA
<213> Artificial/Unknown

<220>
<223> primer

<400> 40
ctcgggaagc gcgccattgt gttggt 26

<210> 41
<211> 34
<212> DNA
<213> Artificial/Unknown

<220>
<223> primer

<400> 41
ccgctcgagc caccatgcgt tttgcctct tctc 34

<210> 42
<211> 28

<212> DNA
<213> Artificial/Unknown

<220>
<223> primer

<400> 42
cggaattcctt attggttcac tctgtctg 28

<210> 43
<211> 33
<212> DNA
<213> Artificial/Unknown

<220>
<223> primer

<400> 43
acgcgtcgac ccaccatgcc ccgctacgag ttg 33

<210> 44
<211> 29
<212> DNA
<213> Artificial/Unknown

<220>
<223> primer

<400> 44
attgaattct cacttcttcc tctctttg 29

<210> 45
<211> 35
<212> DNA
<213> Artificial/Unknown

<220>
<223> primer

<400> 45
ccgctcgagc caccatgaag ccgcccggca gcatc 35

<210> 46
<211> 29

<212> DNA
<213> Artificial/Unknown

<220>
<223> primer

<400> 46
cggaattctc agatggggcc ttgctgagt

29

請求の範囲

1. 以下の(A)または(B)のポリペプチドをコードするDNA。
(A) 配列番号19、配列番号23、および、配列番号25からなる群から選ばれるアミノ酸配列を少なくとも有するポリペプチド。
(B) (A)に記載のアミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸が置換、欠失または挿入されたアミノ酸配列を有し、かつ、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する活性を有するポリペプチド。
2. 以下の(a)または(b)のDNAである請求項1記載のDNA。
(a) 配列番号18において塩基番号1～444からなる塩基配列、配列番号22において塩基番号642～1370からなる塩基配列、および、配列番号24において塩基番号132～506からなる塩基配列からなる群から選ばれる塩基配列を少なくとも有するDNA。
(b) (a)に記載の塩基配列を有するDNAまたは同DNAから調製され得るプローブとストリンジントな条件下でハイブリダイズし、かつ、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する活性を有するポリペプチドをコードするDNA。
3. 前記ストリンジントな条件が、6×SSC、5×Denhardt、0.5% SDS、68°C (SSC; 3M NaCl、0.3M クエン酸ナトリウム) (50×Denhardt; 1% BSA、1% ポリビニルピロリドン、1% Ficoll 400) または6×SSC、5×Denhardt、0.5% SDS、50%ホルムアミド、42°Cである請求項2記載のDNA。
4. 請求項1～3のいずれか一項に記載のDNAを発現可能な形態で含む発現ベクター。
5. 請求項1～3のいずれか一項に記載のDNAが発現可能な形態で導入された細胞。
6. 請求項1～3のいずれか一項に記載のDNAの発現産物であり、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する活性を有するポリペプチド。
7. 配列番号19、配列番号23、および、配列番号25からなる群から選ば

れるアミノ酸配列、または、このアミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸が置換、欠失または挿入されたアミノ酸配列を有する請求項6記載のポリペプチド。

8. ポリエチレングリコール (PEG)、デキストラン、ポリ (N-ビニルピロリドン)、ポリプロピレングリコールホモポリマー、ポリプロピレンオキシド/エチレンオキシドのコポリマー、ポリオキシエチル化ポリオール、ポリビニルアルコールのいずれか、またはそれらの2種以上の組合わせによって修飾された請求項6又は7に記載のポリペプチド。

9. 請求項6～8のいずれか一項に記載のポリペプチドに結合するモノクローナル抗体。

10. 以下の(A)または(B)のポリペプチドをコードするDNAが発現したストローマ細胞を造血幹細胞または造血前駆細胞と共培養することを含む、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する方法。

(A) 配列番号9、配列番号11、配列番号13、配列番号15、配列番号17、配列番号19、配列番号21、配列番号23、配列番号25、配列番号27、および、配列番号29からなる群から選ばれるアミノ酸配列を少なくとも有するポリペプチド。

(B) (A)に記載のアミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸が置換、欠失または挿入されたアミノ酸配列を有し、かつ、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する活性を有するポリペプチド。

11. DNAが以下の(a)または(b)のDNAである請求項10記載の方法。

(a) 配列番号8において塩基番号1～1671からなる塩基配列、配列番号10において塩基番号1～1674からなる塩基配列、配列番号12において塩基番号1～366からなる塩基配列、配列番号14において塩基番号84～1121からなる塩基配列、配列番号16において塩基番号1～1035からなる塩基配列、配列番号18において塩基番号1～444からなる塩基配列、配列番号20において塩基番号1～444からなる塩基配列、配列番号22において塩基番号642～1370からなる塩基配列、配列番号24において塩基番号132～506からなる

塩基配列、配列番号 26 において塩基番号 1～2487 からなる塩基配列、および、配列番号 28 において塩基番号 1～2496 からなる塩基配列、からなる群から選ばれる塩基配列を少なくとも有する DNA。

(b) (a) に記載の塩基配列を有する DNA または同 DNA から調製され得るプローブとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する活性を有するポリペプチドをコードする DNA。

12. 以下の (A) または (B) のポリペプチドであって、その存在下で造血幹細胞または造血前駆細胞を培養したときに造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する活性を示すポリペプチドの存在下で造血幹細胞または造血前駆細胞を培養することを含む、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する方法。

(A) 配列番号 9、配列番号 11、配列番号 13、配列番号 15、配列番号 17、配列番号 19、配列番号 21、配列番号 23、配列番号 25、配列番号 27、および、配列番号 29 からなる群から選ばれるアミノ酸配列を少なくとも有するポリペプチド。

(B) (A) に記載のアミノ酸配列において、1 若しくは数個のアミノ酸が置換、欠失または挿入されたアミノ酸配列を有し、かつ、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する活性を有するポリペプチド。

13. 以下の (A) または (B) のポリペプチドであって、その存在下で造血幹細胞または造血前駆細胞を培養したときに、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する活性を示すポリペプチドを有効成分として含む、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持し得る医薬組成物。

(A) 配列番号 9、配列番号 11、配列番号 13、配列番号 15、配列番号 17、配列番号 19、配列番号 21、配列番号 23、配列番号 25、配列番号 27、および、配列番号 29 からなる群から選ばれるアミノ酸配列を少なくとも有するポリペプチド。

(B) (A) に記載のアミノ酸配列において、1 若しくは数個のアミノ酸が置換、

欠失または挿入されたアミノ酸配列を有し、かつ、造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する活性を有するポリペプチド。

要約書

造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する細胞、および支持しない細胞の細胞間で発現する遺伝子を比較することで、造血幹細胞または造血前駆細胞を支持する活性を有するのポリペプチドをコードする遺伝子を単離し、単離された遺伝子を発現するストローマ細胞または単離された遺伝子の発現産物を用いて造血幹細胞または造血前駆細胞の増殖または生存を支持する。

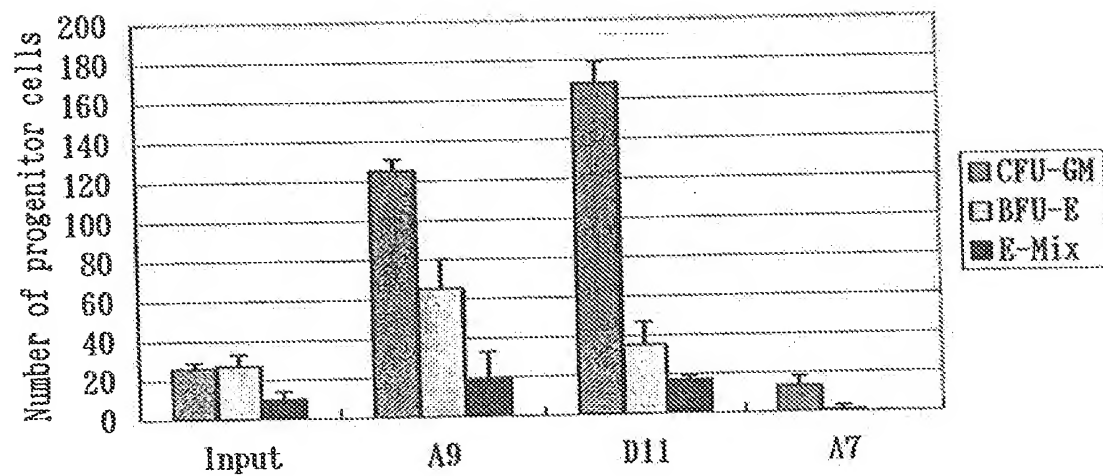


Fig.1

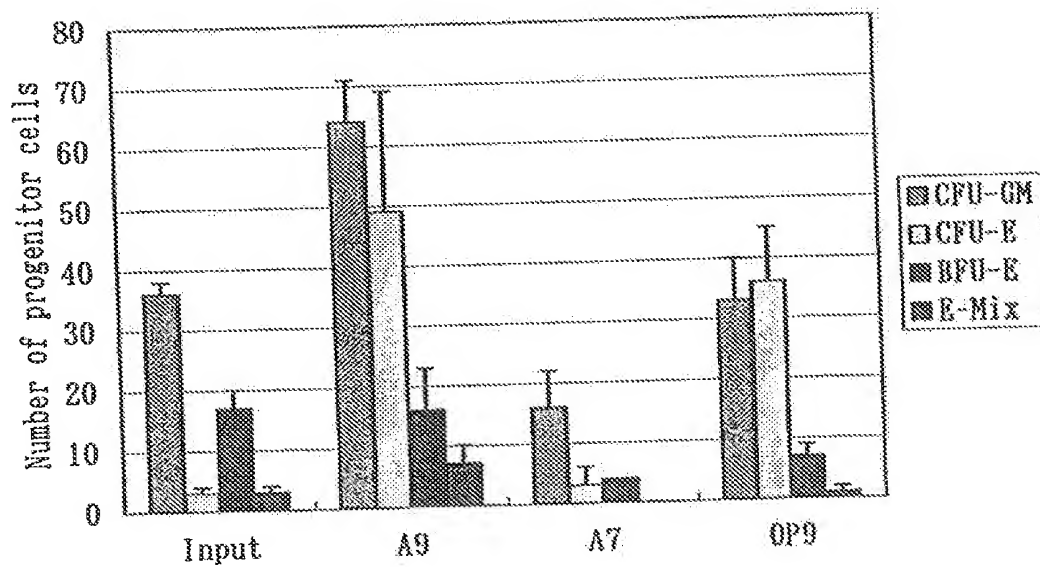
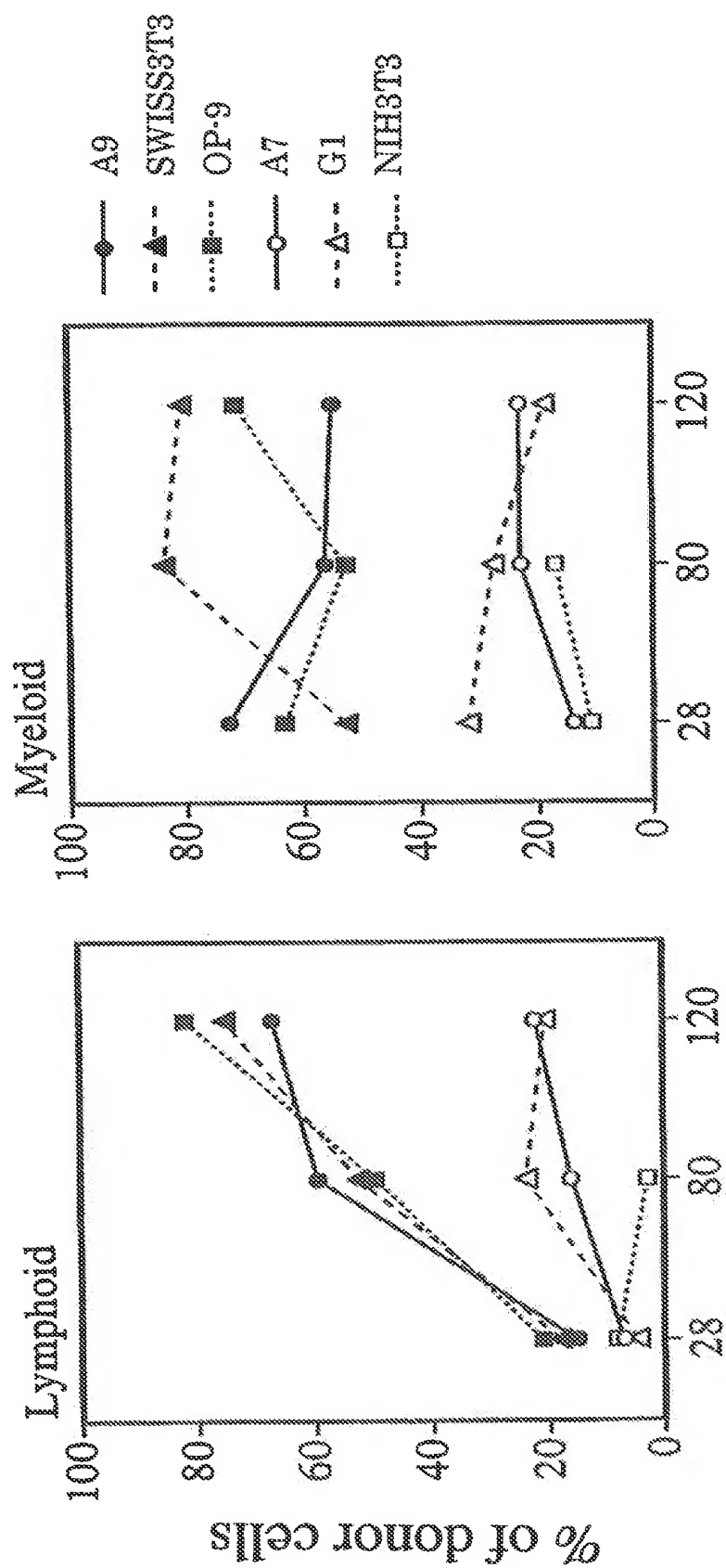


Fig.2



Days after transplantation

Fig.3

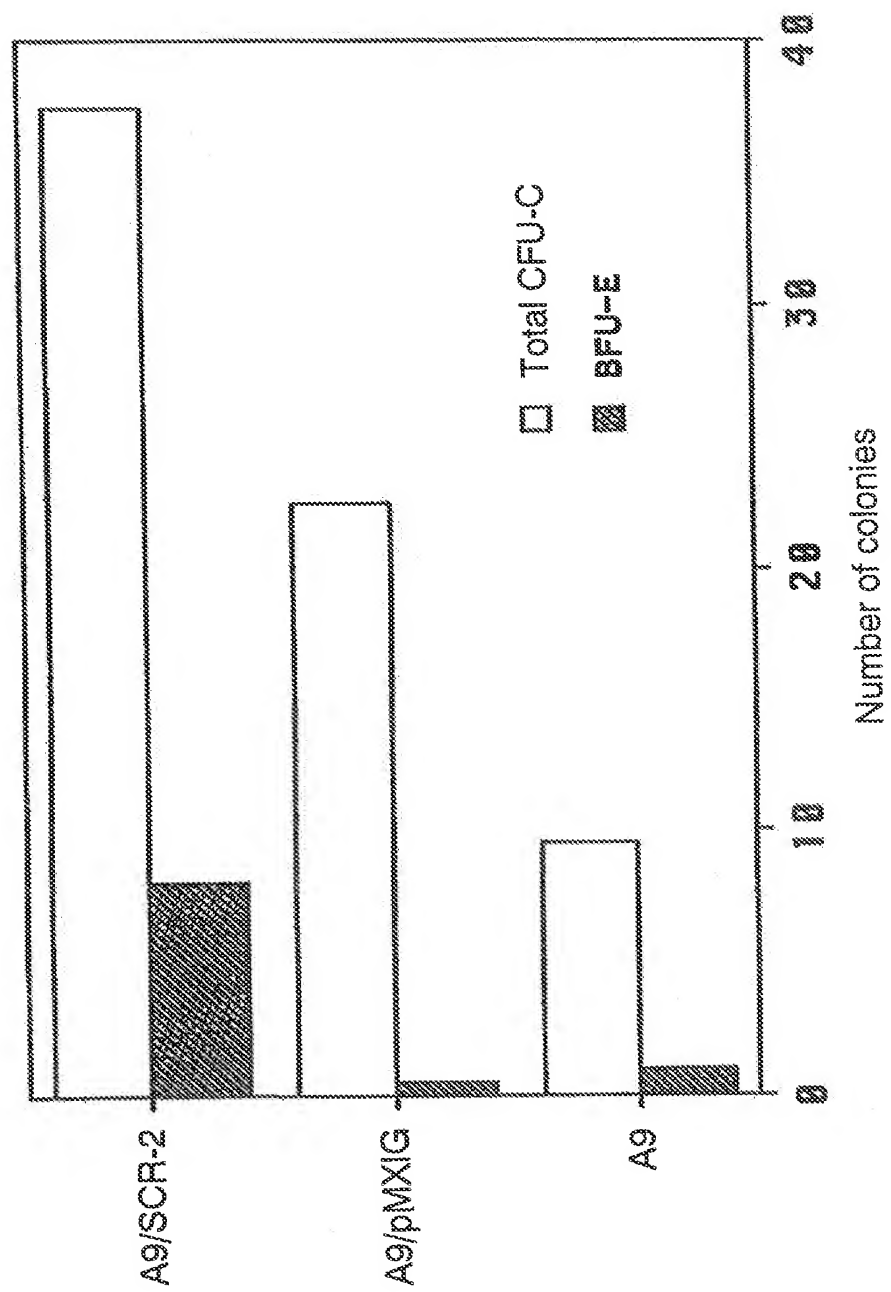


Fig. 4

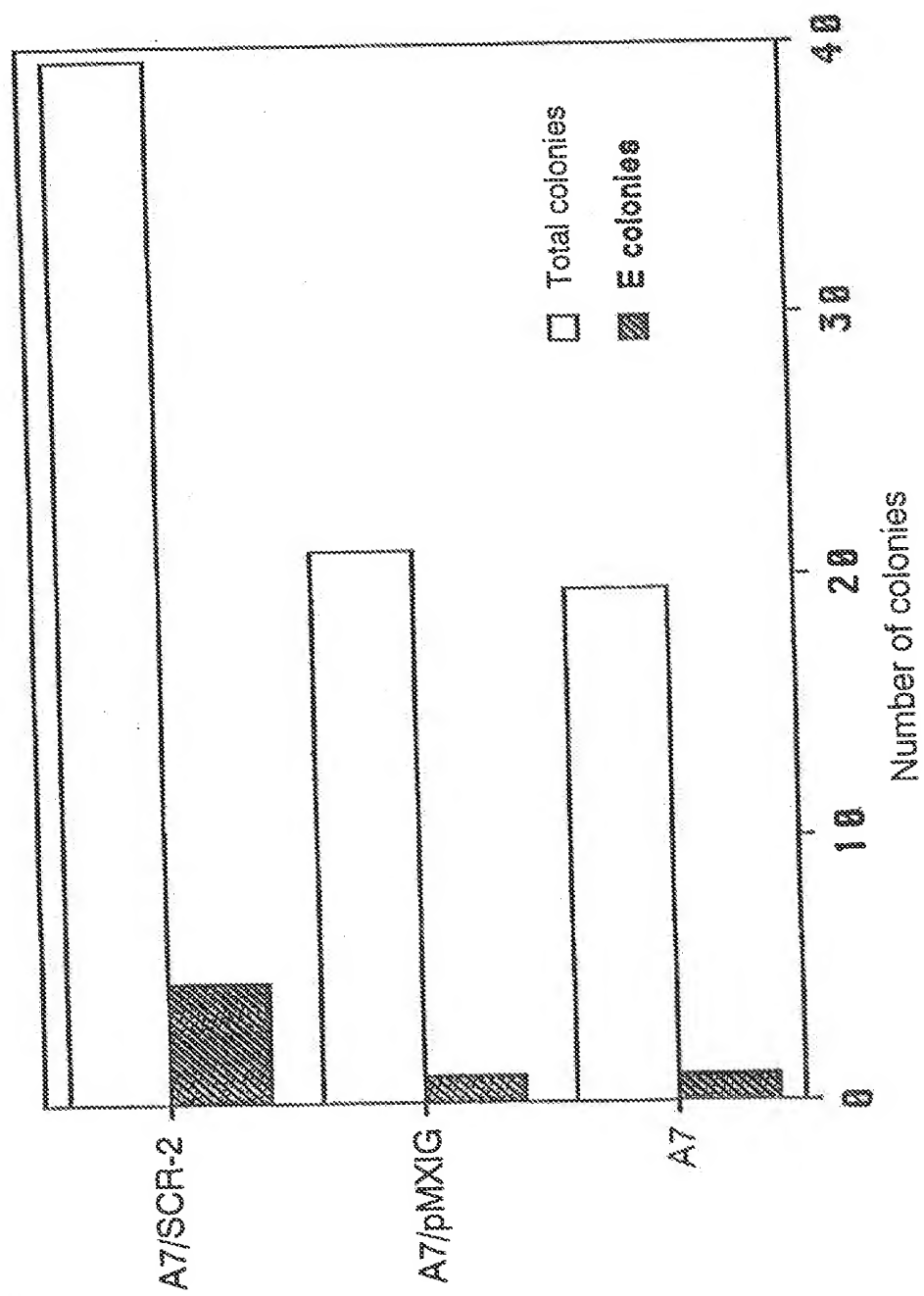
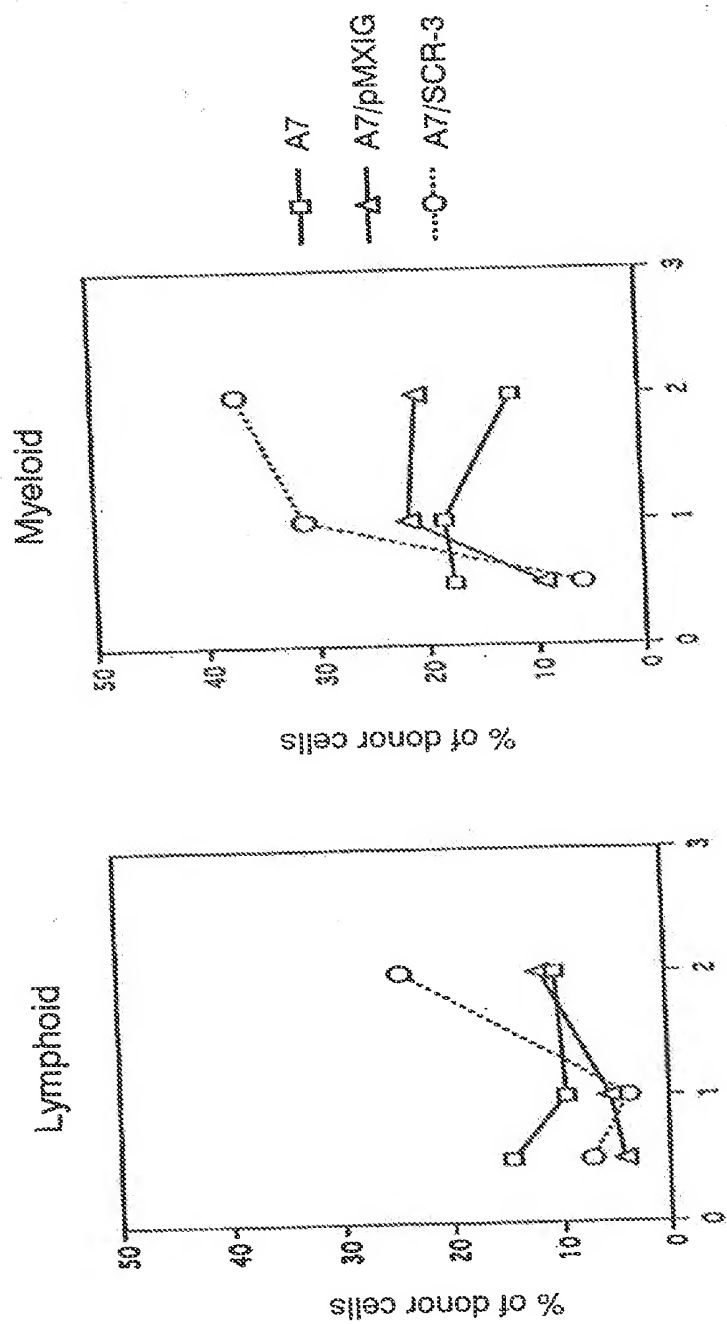


Fig. 5



Months after transplantation

Fig. 6

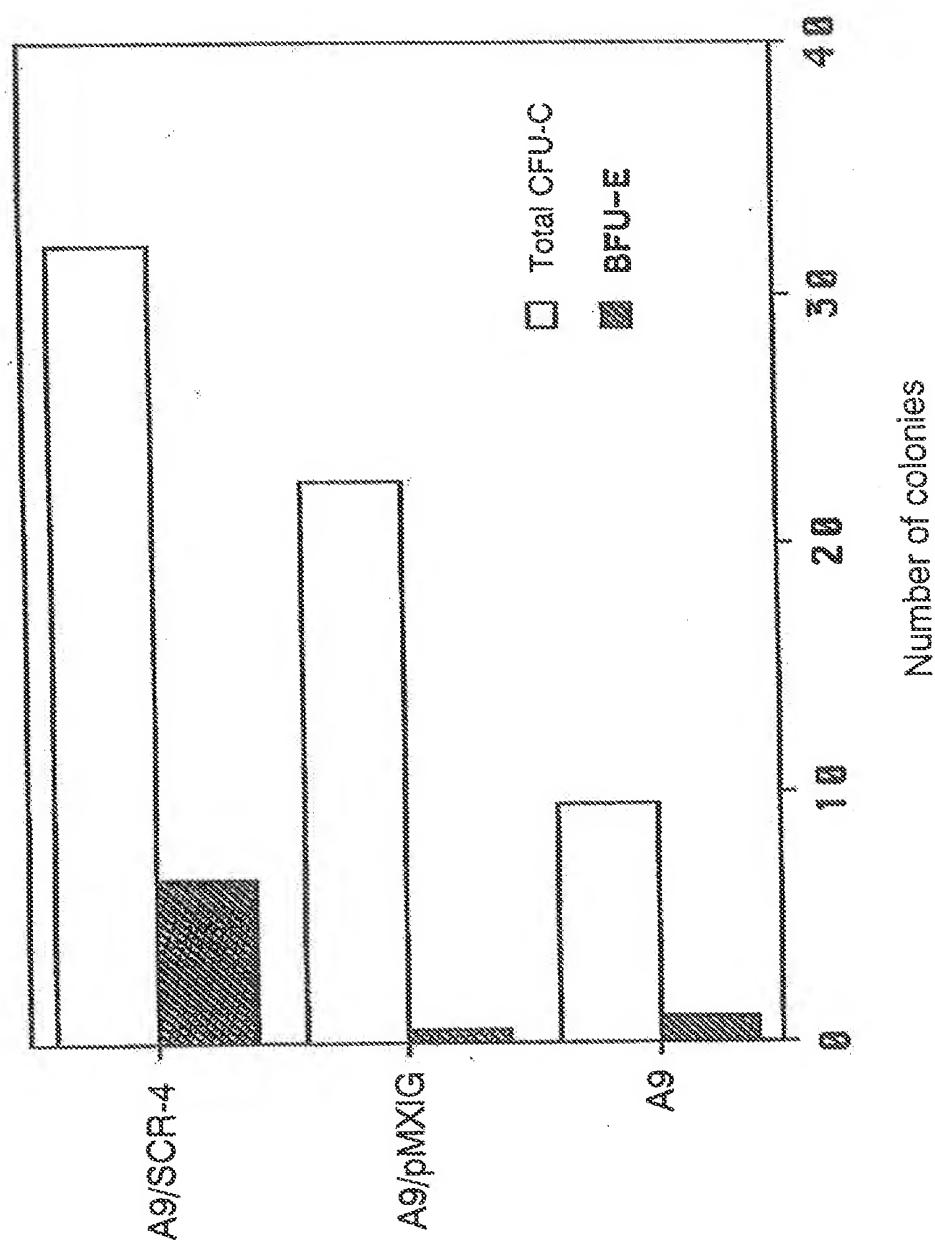


Fig. 7

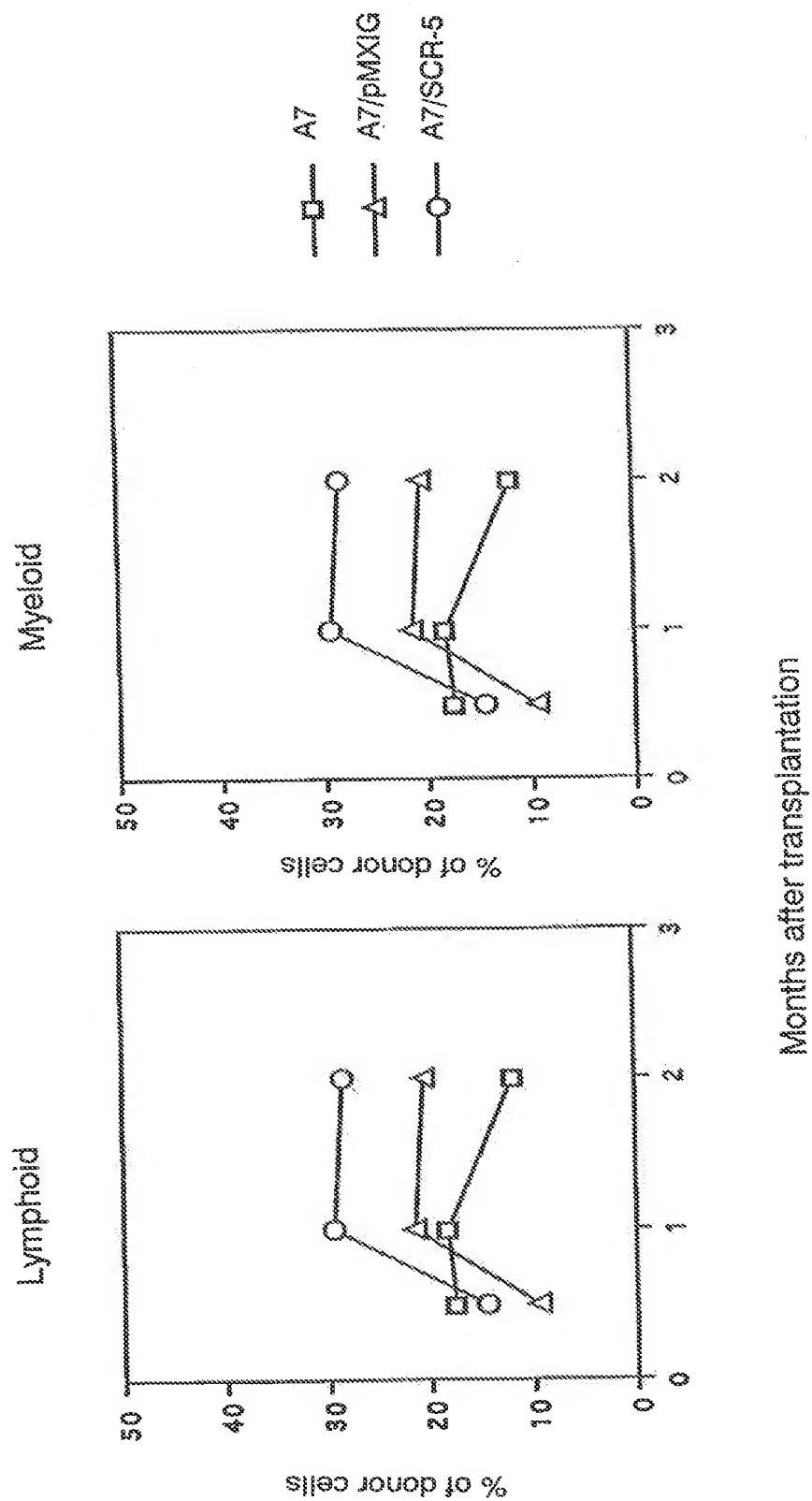


Fig. 8

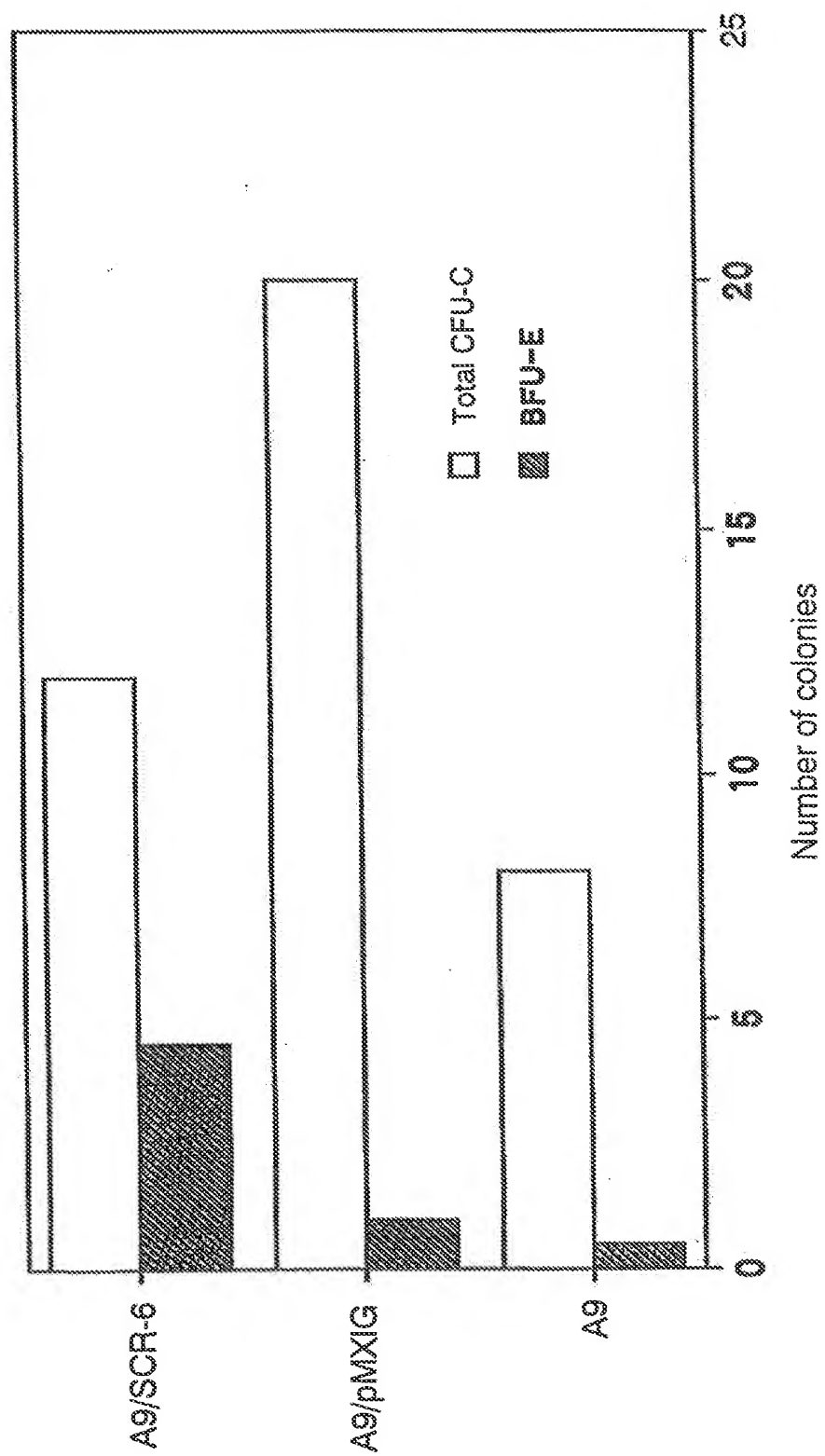


Fig. 9

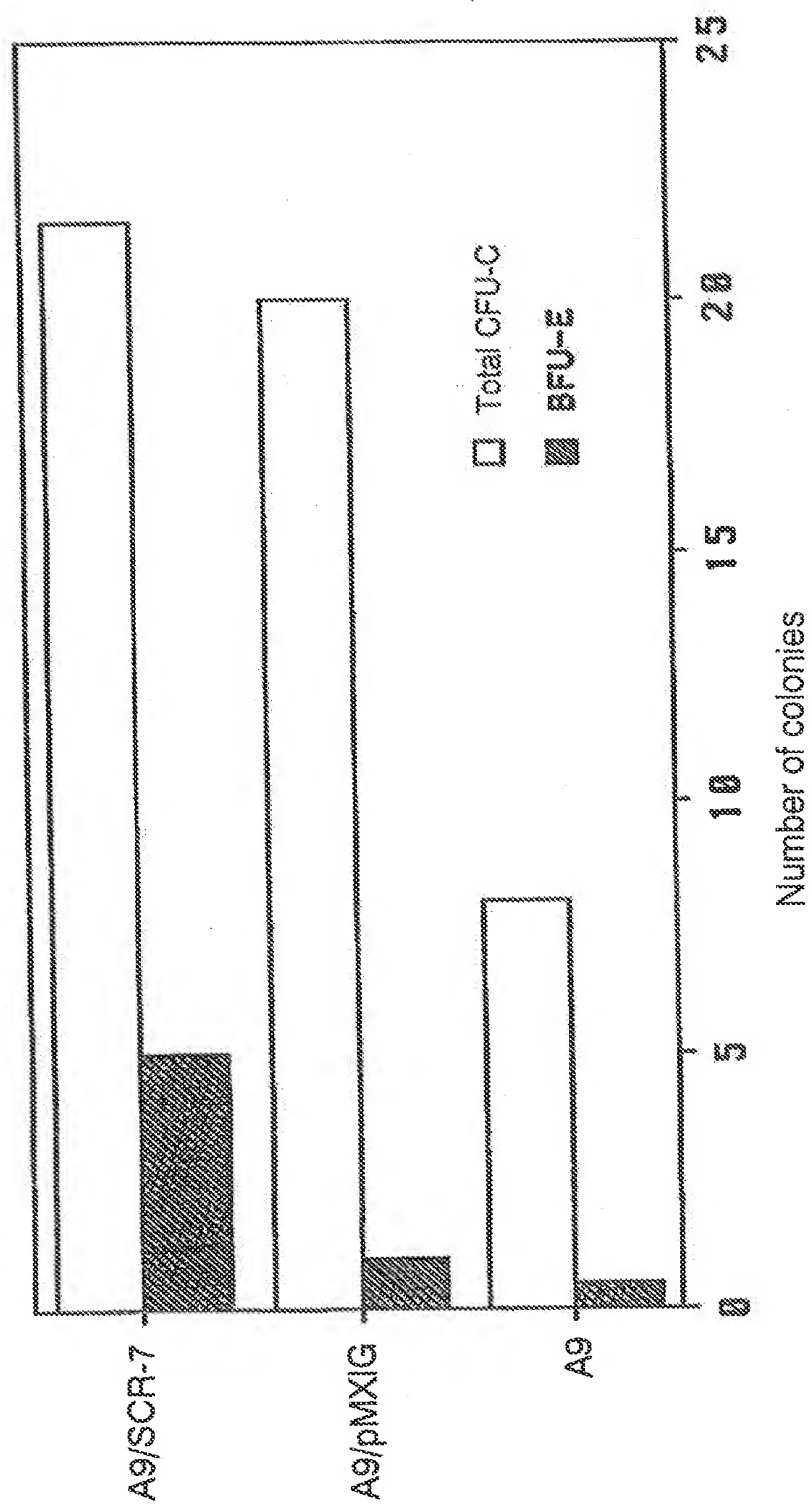


Fig. 10

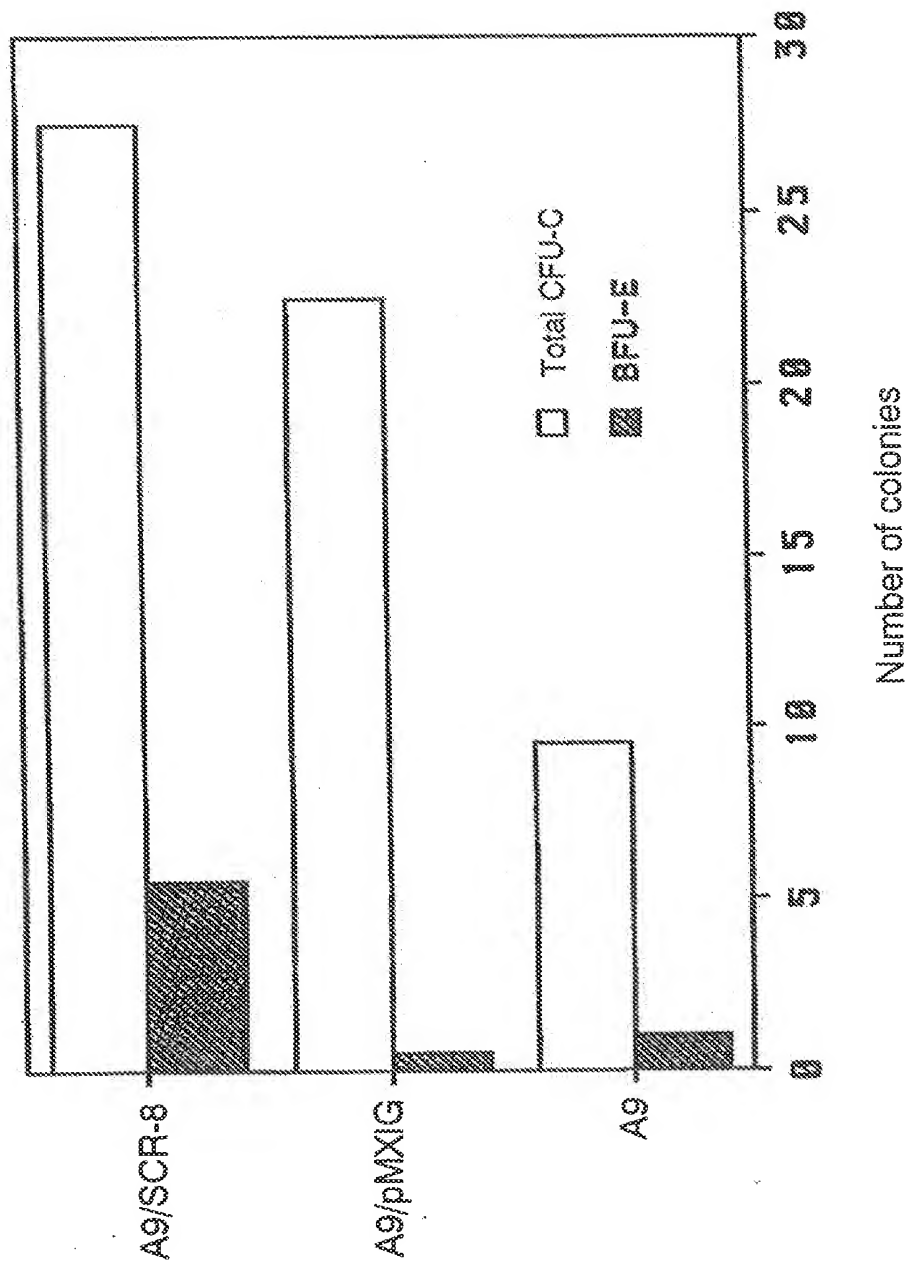


Fig. 11